

Aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Veterinärklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Tillmann

**Zur vitalzytologischen Strukturanalyse der Eizelle
beim geschlechtsreifen Schwein**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Wilma Specht
Tierärztin aus Eschweiler

Gießen 1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Ambulatorischen und Geburtshilflichen Veterinärklinik
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. H. Tillmann

**Zur vitalzytologischen Strukturanalyse der Eizelle
beim geschlechtsreifen Schwein**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

eingereicht von
Wilma Specht
Tierärztin aus Eschweiler

Gießen 1970

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät in Gießen

D e k a n : Prof. Dr. H. Tillmann

Berichterstatter: Prof. Dr. H. Tillmann

Tag der mündlichen Prüfung: 1. und 3. Dezember 1970



Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. LITERATURÜBERSICHT	2
1. Cumulus oophorus	2
2. Corona radiata	2
3. Zona pellucida	3
4. Perivitelliner Spaltraum	4
5. Eihaut	4
6. Dotter	4
7. Ooplasma mit Einschlüssen	5
8. Nucleus	6
9. Nucleolus	7
10. Polkörper	8
11. Eidegenerationen	8
12. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen	10
13. Größe der Eizelle	11
C. EIGENE VERSUCHE	12
I. Material und Methodik	12
II. Untersuchungsergebnisse	13
a) Stereomikroskopische Untersuchungen	13
b) Phasenoptische Untersuchungen	16
1. Corona radiata	16
2. Zona pellucida	17
3. Eihaut	19
4. Dotter	19
5. Ooplasma mit Einschlüssen	19
6. Nucleus und Nucleolus	21
7. Perivitelliner Raum und Polkörper	22
8. Eidegenerationen	23
9. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen	25
10. Größe der Eizellen	26

	<u>Seite</u>
D. DISKUSSION	33
1. Corona radiata	33
2. Zona pellucida	34
3. Eihaut	34
4. Dotter	34
5. Ooplasma mit Einschlüssen	36
6. Nucleus und Nucleolus	37
7. Perivitelliner Raum und Polkörper	38
8. Eidegenerationen	39
9. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen	41
E. ZUSAMMENFASSUNG	43
F. LITERATURVERZEICHNIS	45

A. EINLEITUNG

Um den natürlichen Bau einer Zelle, ohne Veränderungen intra oder post vitam, erforschen zu können, muß die Zelle vital sein und während der Untersuchung bleiben. Obwohl lebende Eizellen aus frischen, makroskopisch und mikroskopisch unveränderten Ovarien schon frühzeitig untersucht wurden, kam man doch immer wieder auf fixierte und gefärbte Präparate zurück, da durch das normale Lichtmikroskop (Hellfeld) Einzelheiten des Baues der Zelle nur so gut dargestellt werden konnten. Man nahm dabei die in ihrer Größe und Ausdehnung unbekannte Beeinflussung und Veränderung der Zelle durch die verschiedenen Fixierungs- und Färbemittel in Kauf.

Das gleiche Problem gibt das Elektronenmikroskop (EM) auf, dem wichtige submikroskopische Einzelheiten des Aufbaus der Eizelle verdankt werden. Erst seit 1935 - mit der Entwicklung des Phasenkontrastmikroskopes (PM) - ist es möglich Strukturelemente lebender, unbehandelter Zellen überhaupt strukturell deutlicher sichtbar zu machen. Dieses Verfahren ist eine wertvolle Hilfe zur Strukturanalyse. Dabei muß man sich der Tatsache bewußt bleiben, daß dieses System Lichtbrechungsinhomogenitäten als optische Eigenschaften wiedergibt. Dies bedeutet, daß die Objektstruktur aus der Summe der Lichtbrechungsinhomogenitäten erstellt wird und so diese verschiedenen Lichtbrechungswerte in eine Skala verschiedener Grauwerte transponiert wird. Diese Werte sind aber untereinander nicht absolut und größenmäßig definiert. Darin liegt die Schwierigkeit der erkenntniskritischen Deutung der erhaltenen Bilder (HASELMANN, 1950).

Hinzu kommt noch, daß die Eizelle ein relativ dickes und zusammengesetztes Objekt darstellt, das PM aber die unverfälschtesten Bilder dann wiedergibt, wenn der durchfallende Strahlengang möglichst wenige in seiner Verlaufsrichtung hintereinander angeordnete beugende Grenzen von Strukturelementen passiert.

Im Text werden Abkürzungen mit folgender Bedeutung benutzt:

LM = Lichtmikroskop (Hellfeld), PM = Phasenkontrastmikroskop,
FM = Fluoreszenzmikroskop, EM = Elektronenmikroskop.

B. LITERATURÜBERSICHT

Noch heute gibt die Eizelle - erstmals von Ernst von BAER (1827) beschrieben und von anderen Zellen unterschieden - viele Probleme zur Lösung auf, obgleich man zahlreiche Arbeiten über ihre Entwicklung und ihre Struktur finden kann.

1. Cumulus oophorus

Das Ei wird mit dem es umgebenden Epithelzellhäufchen, dem Cumulus oophorus, dessen einzelne Zellen in einer Matrix gebettet sind, ovuliert und von der Tubenmukosa denudiert. SMIDT und HOLTZ (1967) erhalten aber bei ihren Versuchen mit Follikel-eizellen vom Schwein 6,3 % Eier, die frei von Cumulus-Zellen sind. Sie machen die Anzahl dieser "freien" Eier von der Art der Gewinnung abhängig.

2. Corona radiata

Die innerste Zellage des Cumulus oophorus bildet die Corona radiata, deren Bedeutung für die Eizelle von den einzelnen Autoren verschieden ausgelegt wird.

Nach TRUJILLO - CENOZ und SOTELO (1959, Kaninchenei unter dem EM) und SOTELO und PORTER (1959, Rattenei unter dem EM) haben die Follikel-eizellen vielverzweigte Ausläufer, die schräg oder tangential zur Eioberfläche durch die Zona pellucida ziehen. CHIQUOINE (1960, Mäuse-, Ratten-, Meerschweinchen-, Hamster- und Katzen-eizellen unter dem EM) hat zusätzlich noch festgestellt, daß die Cytoplasmaausläufer in je einer Cytoplasmaeinstülpung des Eies auf dessen Oberfläche münden. Außerdem gibt es noch knollige Fortsätze, die auch in Konkaven der Eioberfläche passen.

ODOR (1960, Rattenei unter dem EM) stellt dagegen keine Verbindung zwischen den Zellfortsätzen und dem Ooplasma fest.

3. Zona pellucida

Als nächste Hülle folgt auf den Cumulus oophorus mit der Corona radiata die Zona pellucida. Ihren Aufbau aus zwei konzentrischen Schichten beschreiben STRASSMANN (1933, menschliche Eizelle nach WATZKA 1957), SHETTLES (1960, menschliche Eizelle unter dem PM), CHIQUOINE (1960), DICKMANN (1963, ovulierte Kanincheneizellen). Nach DICKMANN (1964, vitale Schweineeizellen unter dem PM und LM) besteht die Zona pellucida aus drei konzentrischen Lagen, einer inneren, mittleren und äußeren, die nicht immer unterschieden werden können. Besonders die innere und mittlere Zone bilden oft eine Schicht.

Sonst wird die Zona pellucida als eine homogene, strukturlose, semipermeable Masse angesehen, so NICHOLAS und HALL (1942, nach BOYD a. HAMILTON 1958), AUSTIN und SMILES (1948, Rattenei, Vitalpräparat unter dem PM), WATZKA (1957, menschliche Eizelle, fixierte und gefärbte Präparate).

Nach TRUJILLO-CENOZ und SOTELO (1959) wird die amorphe Masse der Zona pellucida im Zellcytoplasma erstellt und später in die zonäre Lage entlassen. Es ist nicht zu entscheiden, ob die Zona pellucida vom Ei, von den Follikelepithelzellen oder von beiden gebildet wird.

HARTMANN (1926, Opossum- und andere Säugetiereizellen) hat in mehreiligen Follikeln Eier mit normaler Zona pellucida beobachtet, die keine Verbindung mit Follikelepithelzellen hatten und schließt daraus, daß die Zona pellucida von der Eizelle selbst gebildet wird.

Die Dicke der Zona pellucida der Schweineeizelle gibt CORNER (1928, Säugetierei) mit 10 μm , AMMAN (1936) mit im allgemeinen 3 μm , KVASNICKIJ und KONJUCHOWA (1963) beim lebenden Ei mit 10-20 μm , SMIDT und HOLTZ (1967) am lebenden Präparat unter dem PM mit 5,1-25,0 μm an.

4. Perivitelliner Spaltraum

Die meisten Autoren geben einen perivitellinen Spalt bzw. einen hypolemmalen Raum an, der zu verschiedenen Zeiten auftreten soll.

AMMAN (1936, Schweineeizelle, fixierte und gefärbte Präparate) stellt bei Eiern aus Graaf'schen Follikeln einen perivitellinen Raum fest, läßt aber die Frage offen, ob es sich um ein Kunstprodukt handelt oder nicht. BARGMANN (1959, menschliche Eizelle) und KVASNICKIJ und KONJUCHOWA (1963, Schweineeizelle, lebendes Präparat) geben diesen Spaltraum als stets vorhanden an.

5. Eihaut

Die erste Hülle der Eizelle ist die Vitellinmembran oder Eihaut.

FISCHER (1905) und RUBASCHKIN (1905) geben die Eimembran als wirklich vorhanden an. CORNER (1928) lehnt sie dagegen für alle Säugetiereizellen ab. Alle späteren Autoren außer SHETTLES (1960) bestätigen wieder eine Eimembran, (BOYD und HAMILTON, 1958; BRAMBELL 1960; SCHNELL 1968; HADEK 1969).

Nach SOTELO und PORTER (1959), TRUJILLO-CENOZ und SOTELO (1959), ODOR (1960), CHIQUOINE (1960) sendet die Eimembran Mikrovilli aus, die bis zur Mitte der Zona pellucida reichen. Sie sind zur Resorption von Nahrungsstoffen da, die durch die Zona diffundieren, während die Follikelzellfortsätze für solche da sind, die nicht diffundieren können.

6. Dotter

Im Ei unterscheidet man den Bildungsdotter, der den Embryo hervorbringt und den Nahrungsdotter, die Bau- und Reservestoffe des Eies zum Aufbau des Bildungsplasmas und zur Ernährung des Bildungsplasmas. Mit Dotter ist hier der Nahrungsdotter gemeint.

Nach GURAYA (1965, Eizelle von Hund und Katze) unterscheidet man bei den Säugetieren prinzipiell zwei Dotterarten, einen Fett-Dotter und einen Protein-Dotter.

HEUSER und STREETER (1929) sagen über das Dottermaterial der Schweineeizelle folgendes: "Das Hervorstechendste an der Eizelle ist das Vorhandensein von Fettkugeln, die durch das ganze Cytoplasma verteilt sind. Wenn man auf die Oberfläche des Eies fokussiert, kann man sehr schön die einzelnen Kugeln sehen. Die Fetttropfen variieren in ihrer Größe. Die größeren neigen dazu an der Peripherie zu liegen und sind gleichmäßig über die Oberfläche verteilt. Es konnte keine Tendenz zur Polbildung erkannt werden wie R. van der Stricht dies von der Katze beschreibt." Die Dotterverteilung in der Schweineeizelle ruft nach BRAMBELL (1960) keine Polarität hervor wie z. B. bei den Amphibieneiern.

7. Ooplasma mit Einschlüssen

Der allgemeine Aufbau des Eicytoplasmas (SEIDEL 1953), das kolloid-chemisch nahezu immer ein Gel bleibt, hat folgende Komponenten: a) ein Entoplasma, das nicht homogen ist, sondern aus einer fibrillären Phase, dem Grundcytoplasma, und einer flüssigen Phase, dem Enchylema besteht; b) ein Ectoplasma mit submikroskopischer Struktur.

Von den Einschlüssen und Zellorganellen werden bei den einzelnen Autoren verschiedene genannt bzw. in verschiedenem Maße berücksichtigt.

AUSTIN und SMILES (1948) gehen auf das Aussehen der Einschlüsse ein. Der Vitellus bietet ein komplexes Bild, an dem am auffallendsten die sehr zahlreichen kleinen, dunklen, unregelmäßig im Cytoplasma verteilten Granula sind, die wiederum, wenn sie aus dem Schärfenbereich sind, wie weiße Punkte aussehen. Wahrscheinlich sind es Mitochondrien, die durch die ganze Zelle verschiedene Aggregate in variierendem Ausmaß bilden oder sich zu Ketten formen. Gelegentlich werden größere Granula gesehen,

wie es auch eine Anzahl von klaren großen Kugeln gibt. Über die Natur beider läßt sich nur mutmaßen.

Nach ODOR (1960) liegen in den Eizellen der Primär- bis Tertiärfollikel die Mitochondrien, Golgikomplexe und vielbläsigen Gebilde in kleinen Gruppen zusammen meist an der Peripherie. In der Eizelle, die kurz vor der Ovulation steht, ist die periphere Konzentration der Cytoplasmaelemente groß. Die Mitochondrien erscheinen jetzt kleiner und einheitlicher in ihrer Gestalt.

Die übrigen Autoren geben ohne sonstige nähere Beschreibung das Vorhandensein von Mitochondrien und Golgikomplexen in der Eizelle an (BRAMBELL 1960, HAFEZ 1962, AUSTIN 1967, SCHNELL 1968).

SMIDT (1965) schreibt, daß bei ungeschädigten Schweineeizellen die Einschlußpartikel homogen verteilt sind, wobei in der subcortikalen Schicht veränderte Lichtbrechungsverhältnisse vorliegen.

SMIDT und HOLTZ (1967) beschreiben normal aussehendes Cytoplasma der Schweineeizelle wie folgt: "kompakt einheitlich, feinkörnige Struktur oder kompakt einheitliche Struktur mit größeren Granula."

8. Nucleus

Wie jede Zelle enthält auch das Säugetierei einen Kern. Bei den meisten Tieren ist bei der Geburt in den Oozyten das Dictiotän erreicht. Dieser Kern im Dictiotän ist der Interphasenkern oder der sog. Ruhekern, von den meisten Autoren auch Keimbläschen genannt, damit die Gestalt des Kerns andeutend. Nach SMIDT (1965), HUNTER und POLGE (1966, Schweineeizelle, fix. u. gef. Präparate unter dem PM) und HAFEZ (1962) ist der bläsige bzw. kugelförmige Kern der Oozyte I. Ordnung exzentrisch oder sogar peripher gelagert. SEIDEL (1953) spricht davon, daß der große Kern des unreifen Eies stets dem Richtungskörperpol gleich animaler Pol genähert ist. Nach STEGNER (1967, menschl.

Eizelle unter dem EM), liegt im reifen Ei der gut gerundete Kern zentral oder leicht exzentrisch. Auch bei AUSTIN und SMILES (1948), BRAMBELL (1960) und AUSTIN (1961) ist der Interphasenkern vesikulär und fast kugelförmig.

Nach SOTELO und PORTER (1959) ist das Nucleoplasma im LM homogen und strukturlos und die Membran stellt eine scharfe Grenzlinie dar.

MANDL (1963, Ratteneizelle, fix. u. gef. Präparate unter dem PM) sagt über den Interphasenkern folgendes: " - der große Nucleus enthält oft an der Peripherie Vakuolen und/oder eine große zentrale Vakuole-."

Nach SMIDT (1965) ist das Nucleoplasma fein granuliert und enthält darüber hinaus kleine irregulär geformte Regionen, die auch granuliert sind. Das ganze ist von einer doppelten mit charakteristischen Poren versehenen Membran umgeben.

Auch HUNTER und POLGE (1966) sehen das Nucleoplasma fein granuliert. Das Chromatin ist ring- oder hufeisenförmig um den Nucleolus gelagert.

Über die Größe des Nucleus der Schweineeizelle findet sich nur eine Angabe bei AMMAN (1936): der Durchmesser des Zellkerns im Graafschen Follikel beträgt 35 μ m.

9. Nucleolus

"Der Kern der Eizelle enthält Kernkörperchen, die im morphologischen Erscheinungsbild eine große Variation aufweisen." (TILLMANN und WAGNER 1969).

Die meisten Autoren geben den Nucleolus der Eizelle in der Einzahl und in exzentrischer Lage an: CORNER (1928), AUSTIN und SMILES (1948), WATZKA (1957), SOTELO und PORTER (1959), SHETTLES (1960), AUSTIN (1961), HUNTER und POLGE (1966), SCHNELL (1968).

Dagegen spricht HAFEZ (1962) von ein oder mehreren chromatischen Nucleoli, SMIDT (1965) ebenso, AUSTIN (1967) von variierender Anzahl der Nucleoli, die häufig verschmelzen.

SOTELO und PORTER (1959) haben eine ringförmige Struktur des Nucleolus beobachtet: ein dicker dichter Wall, der ein weniger dichtes Zentrum umgibt. STEGNER (1967) hat ähnliches beobachtet: Haupt- und Nebennucleoli von retikulärem Bau und verschiedenen Formen - aktive und inaktive -. Die aktiven verfügen über eine wallartige Zone um eine Markzone und inselartige Einschlüsse von Kernsubstanz in Vakuolen.

Über die Größe des Nucleolus der Schweineeizelle findet sich nur wieder eine Angabe bei AMMAN (1936): der Durchmesser des Kernflecks im Graafschen Follikel beträgt 6 μm .

10. Polkörper

Bei den Reifungsteilungen werden je ein Polkörper oder Richtungskörper in den hypolemmalen Raum ausgestoßen. Der Ort der Polkörperabscheidung ist der animale Pol (SEIDEL 1953). Die ungleichmäßige Teilung der Eizelle erfolgt nach KVASNICKIJ u. KONJUCHOWA (1963) deshalb, weil der Kern der Oozyte sich zum Zeitpunkt der Teilung an ihre Oberfläche verschiebt. Sie stellen durchsichtige Kügelchen dar mit einem Durchmesser von 15-20 μm und bleiben mit der Eizelle erhalten.

11. Eidegenerationen

ZOLLINGERS (1948) Ausführungen über cytologische Studien an verschiedenen Zellen mit Hilfe des PM haben besonderen Wert, da sie mit biologischen Tests belegt werden können. Diese Untersuchungen demonstrieren, daß verschiedene Alterationen des Kernes sich gleichmäßig mit dem Verlust der Lebensfähigkeit der Zelle entwickeln. Auch nach SCHNELL (1968) stellt die Kernmorphologie ein wichtiges Beurteilungskriterium der Eizelle dar. Eine Art der Degeneration ist die sog. Nuclear-Pyknose (HANCOCK 1963, nach SCHNELL 1968), oder die teilweise Leere des Kerns (AYALON

et al. 1965); eine andere der Verlust des Ooplasmas, mit oder ohne Ruptur der Zona pellucida oder eine lokale oder periphere Cytolyse des Ooplasmas, die häufig mit der Auflösung der Vitellinmembran verbunden ist (AVERIL, 1958, AYALON, 1965, beide nach SCHNELL, 1968). Ebenso muß der unterschiedliche Grad der ooplasmatischen Granulation und Pigmentation beachtet werden.

ZUCKERMANN (1962) gibt folgende Erscheinungsbilder der Eizelldegeneration an: am Kern Pyknose, Fragmentation und Auflösung der Kernmembran. Am Protoplasma Auftreten von kristalloiden Körpern mit zylindrischer Gestalt, die 3-9 μ m lang sind und Gruppen bilden; dann fettige Degeneration und Vakuolisierung des Dotters. An der Zona pellucida - die allerdings Veränderungen lange widerstehen kann - Schrumpfung und Hyalinisierung.

Über Degenerationserscheinungen speziell bei der Schweineeizelle schreiben mehrere Autoren. AMMAN (1936) gibt an, daß die Follikelatresie mit der Eidegeneration beginnt und zwar mit erhöhter Speicherungstendenz für gewisse Farbstoffe und Lipoid- und groben sudanophilen Fetttropfen im Ooplasma. HUHN (1957, Eizellen von Schwein, Rind, Kanin, Pferd) sieht in Hellfeld- und PM-Untersuchungen folgende Bilder als regressive Veränderungen an: 1.) dunkle Konglutationen von Einschlußpartikeln des Deutoplasmas, 2.) wolkige Verschleierung (lytische Form), 3.) Schrumpfung und Vakuolisierung des Cytoplasmas, 4.) häufigere Ablösung von Ovocumulus, 5.) Veränderungen der Epithelzellen (hochgradige Degeneration). Der Verfasser führt weiter aus: "Die dunkel erscheinenden Konglomerate dürften wohl im wesentlichen aus irreversiblen Konglutationen von Dotterkügelchen, Mitochondrien und lipoid- sowie pigmenthaltenden Fettröpfchen bestehen." SMIDT (1965) und (1965), SMIDT und HOLTZ (1967) stützen sich im wesentlichen auf die Befunde von HUHN.

Eine besondere Form der Eizelldegeneration ist die Teilung der Eier in mehrere ungleiche Teile im besonderen in zwei oder drei symmetrische Teile, was dem äußeren Vorgang nach einer

Furchung von Eierstockseizellen gleichkommt.

Während ältere Autoren wie FISCHER (1929 nach MATHIS 1935) und MATHIS (1935) der Meinung sind, daß es sich um keinen degenerativen Prozeß handelt, sondern um eine echte Parthenogenese, sprechen andere und vor allem auch die späteren Forscher höchstens von Pseudoparthenogenese. AUSTIN (1961) stellt klar heraus, daß diese Cytoplasma-Teilung der normalen Teilung sehr ähnlich ist und obwohl viele Autoren erwägen, ob es sich um einen parthenogenetischen Vorgang handelt, ist sie als Disorganisation und degenerative Fragmentation anzusehen. Dagegen sagt BEATTY (1957): "Parthenogenetic mammalian embryos can develop from an egg, which has not been fertilized by a spermatozoon."

12. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen

Über die fluoreszenzmikroskopische Untersuchung der Eizelle (in diesem Abschnitt soll die Eizelle als ganzes behandelt werden) findet sich nur wenig in der Literatur. Für die vitalcytologische Untersuchung kommt nur Vitalfluorochromierung in Frage. Das günstigste und meist untersuchte Fluorochrom dieser Art ist das Acridinorange, ein basischer Farbstoff. Nach STOCKINGER (1964) zeigt eine tierische Zelle bei gleicher Konzentration und Färbedauer bei Blaulicht-Bestrahlung immer folgende Fluoreszenz: Der Zellkern hat eine schwache Grünfluoreszenz, die Chromosomen eine stark grüne und der Nucleolus eine gelborange bis ziegelrote Fluoreszenz. Die DNS fluoresziert grün, die RNS rot. Dazu ist zu bemerken, daß die Fluoreszenz der Nucleinsäuren von ihrer Polymerisation abhängt. RNS ist niedrigpolymer, DNS ist im allgemeinen hochpolymer. Es gibt aber auch niedrigpolymere DNS, die dann wahrscheinlich wie die RNS fluoresziert.

AUSTIN und BISHOP (1958) beobachten an der Oocyte I. Ordnung der Ratte diese Fluoreszenzerscheinungen: Das Cytoplasma enthält viele leuchtend rot fluoreszierende granuläre Elemente, die hauptsächlich um den Kern aber auch in den peripheren Re-

gionen verteilt sind. Z. T. bilden sie dichte Gruppen, die mit lichterem Stellen abwechseln, die keine Fluoreszenz zeigen. Der Nucleus fluoresziert nicht. Der einzige Nucleolus ist von einer dicken Schale leuchtend grün fluoreszierenden Materials umgeben. Das Kernkörperchen selbst zeigt zunächst keine Fluoreszenz, entwickelt aber dann nach einer Weile eine mittlere rote Fluoreszenz; bei höheren Konzentrationen ist diese sofort da.

12. Größe der Eizelle

Die Eizelle ist die größte Zelle des Organismus. Ihre Größe steht aber in keinem Verhältnis zur Körpergröße des jeweiligen Tieres. CORNER (1928) gibt die Größe der Schweineeizelle ohne Zona pellucida mit 150 μm Durchmesser, mit Zona pellucida mit 160 μm an; HARTMANN (1929) den der ausgewachsenen Eizelle mit 120-140 μm und AMMAN (1936) im Graafschen Follikel mit 100 μm . Bei HAFEZ (1962) hat die Eizelle ohne Zona pellucida eine Größe von 120-170 μm ; bei KVASNICKIJ u. KONJUCHOWA hat sie ein Volumen von 0,31 Millionen μ^3 bis 0,95 Millionen μ^3 ; der Autor sagt aber einschränkend, daß man starke Größenschwankungen nicht nur bei verschiedenen Rassen, sondern auch bei ein und demselben Individuum finden kann. SMIDT und HOLTZ (1967) geben die Größe des Vitellus allein mit 71 bis 140 μm an, die des Eies mit Zona pellucida mit 126 bis 155 μm .

Im allgemeinen haben Säugetier-Eizellen nahezu Kugelgestalt. Eine ovale Gestalt ist nach WATZKA (1957) auf die Mikrotechnik zurückzuführen. KVASNICKIJ u. KONJUCHOWA (1963) sagen dagegen, daß normalerweise die verschiedensten Formen vorkommen, etwa zu 5-7 %.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material und Methodik

Es wurden 600 Follikel-Eizellen aus Ovarien von geschlechtsreifen, frisch geschlachteten Schweinen untersucht. Das körperwarme Untersuchungsmaterial wurde in Thermosgefäßen mit 25°C temperierter Ringer-Lösung gesammelt und in das Labor verbracht. Dort wurden die Eierstöcke in vier Gruppen nach der Größe der Follikel eingeteilt und zwar:

- I. Gruppe Stadium der Ruhe bzw. frühe Anbildung von Follikeln mit einem Durchmesser bis 3 mm.
- II. Gruppe Deutliche Anbildung von Follikeln mit einem Durchmesser bis 6 mm.
- III. Gruppe Fortgeschrittenes Wachstum von Follikeln mit einem Durchmesser bis 9 mm.
- IV. Gruppe Fast sprungreife Follikel und sprungreife Follikel mit einem Durchmesser über 9 mm.

Es wurden nur Eierstöcke von Jungsauen verwandt und nur solche, die sich in der Follikelphase befanden.

Die Ovarien wurden dann in Gefäßen mit Ringer-Lösung maximal 3 Tage aufbewahrt, zwischen den Untersuchungen bei Kühlschranktemperatur. Zur Gewinnung der Eizellen wurden in einzelnen Follikel mit einer Rasierklinge gespalten, so daß die Follikelflüssigkeit mit dem darin enthaltenen Ei entlang der Schneide in ein Uhrglasschälchen ablaufen konnte. Diese einfache und schnelle Methode machte nur bei den meisten Follikeln der Gruppe IV etwas Schwierigkeiten, da die Follikelflüssigkeit schon weitgehend viskös war und nicht von selbst an der Klinge entlang floß. Die Ausbeute wurde hier durch Ausschaben der Follikel verbessert. Der Inhalt des Uhrglasschälchens wurde dann unter dem Stereomikroskop durchgemustert, darin enthaltene Eizellen einzeln mit einer Pipette mit einer lichten Weite von 0,6 mm aufgezo-gen und in einem Tropfen Follikelflüssigkeit auf einen Objektträger gebracht.

Zur weiteren Untersuchung mußten die Zellen mit intaktem Cumulus oophorus von diesem mechanisch befreit werden, hierzu wurde ein Pferdeschweifhaar benutzt. Diese Befreiung hat besondere Bedeutung für die Fluoreszenzmikroskopie.

Die so behandelten Eizellen wurden zunächst im Dunkelfeld des Stereomikroskops mit einer 144fachen und einer 216fachen Vergrößerung beobachtet. Zur besseren Beurteilung der Dotterverteilung wurden die Eizellen mit dem Pferdehaar gewendet und gedreht. Danach wurden sie entweder fluorchromiert oder mit einem Deckglas mit Eukitt umrandet und phasenoptisch untersucht.

Für die Messungen wurden nur solche Eier verwendet, die eine fast runde Gestalt hatten, so daß der einmal gemessene Durchmesser allen anderen gleich war. Im übrigen lagen diese Eiformen auch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle vor.

Als Richtlinien für die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen galten die Angaben von AUSTIN und BISHOP (1958).

Im Phasenkontrastmikroskop (Leitz) wurde ein Kondensor nach HEINE verwandt.

II. Untersuchungsergebnisse

a) Stereomikroskopische Untersuchungen

Die Beobachtungen im Dunkelfeld des Stereomikroskops betreffen hauptsächlich den Dotter und die Cumulus-Zellen, unter bestimmten Umständen sind auch das Cytoplasma und der Kern sowie das Kernkörperchen sichtbar. Sowohl das von Cumuluszellen umhüllte als auch das von diesen weitgehend befreite Ei schwimmt in seinem Medium so, daß der ganze Innenraum der Zelle von mehr oder weniger dicht gepackten Dotterkugeln angefüllt zu sein scheint. Erst beim Drehen und Wenden des Eies wird die eigentliche Lagerung des Dotters im Cytoplasma sichtbar. Vorweg muß

bemerkt werden, daß alle Konfigurationen des Dotters in allen vier Gruppen vorkommen, und daß bestimmte Konfigurationstypen öfters auftreten und weiterhin, daß die Gestalt der Dottermasse relativ viele Variationen aufweist. Außerdem muß man sich verdeutlichen, daß die Dottermasse immer ein rundliches Gebilde darstellt, zusammengesetzt aus großen und kleinen Dotterkugeln, die dicht oder weniger dicht gelagert sein können.

Die am häufigsten vorkommende Art mit 25,6 % ist die kompakte Kugel, die etwas abgeflacht sein kann, einen aufgelockerten Rand haben oder eingestreut einige kleine weniger dichte Stellen aufweisen kann. Als Gegenstück hierzu kommt zu 10,2 % die locker strukturierte Kugel vor. Man sieht im Dunkelfeld mehr oder weniger deutlich die einzelnen Dotterkugeln. Eine andere Art ist die kompakte Kugel, die an ihrer Peripherie ein dotterfreies Areal aufweist, meist in Kerngröße oder etwas darüber. Sie kommt wie auch ihr Gegenstück, die locker strukturierte Kugel mit dotterfreiem peripheren Areal, zu 10,2 % vor.

Neben der kompakten Kugel ist noch am häufigsten mit 12,5 % die Dreiviertel-Kugel vertreten, deren Dotterkugeln locker oder dicht gepackt sein können.

Ein ähnliches Aussehen bietet die Vierfünftel-Kugel, die mit 10,7 % vertreten ist. Variiert werden diese beiden Typen durch ein peripheres dotterfreies Areal gegenüber einem anderen dotterfreien Teil. Die Art kommt zu 7,6 % vor.

Mit 4,8 % kommt die Hohlkugel vor. Zunächst glaubt man, eine locker strukturierte Kugel mit peripherem dotterfreiem Areal vor sich zu haben. Dreht man dieses Areal aber genau in die Mitte des Sehfeldes bzw. des Eies, so sieht man, daß der dotterfreie Teil sich röhrenartig in das Zentrum des Eies und darüber hinaus fortsetzt.

Zu je 2,5 % sind Eizellen zu finden, deren Dottermasse eine Scheibe bildet, die im Äquator des Eies steht oder liegt, und Eizellen, deren Dottermasse nur eine halbe Kugel bildet.

Es gibt natürlich auch Eizellen, die zu keinem der beschriebenen Typen passen, wie z. B. Bild 1 zeigt. Diese Zellen machen ungefähr 6 % aus.

Nur zwei unter all den Zellen zeigen keine Dotterkugélchen, sondern ziemlich große Dotterkugeln in geringer Anzahl wahllos im Cytoplasma verteilt wie Bild 2 zeigt.

Bei etwa 8 % der Eizellen leuchtet bei gleicher Lichtintensität der Dotter nur sehr schwach. Ein gleicher Prozentsatz zeigt entgegengesetzt dazu eine sehr starke Leuchtkraft, ebenso wie die noch vorhandenen Follikelepithelzellen. Unter dem PM kann man bei ersteren keine Besonderheiten oder deutlich wahrnehmbare regressive Veränderungen feststellen. Dieses gelingt auch nicht bei den leuchtkräftigen Zellen, wohl aber an deren Follikelepithelien. Bei diesen erscheint der Kern zerstört und die ganze Zelle stark dunkel pigmentiert.

Der Dotter berührt im allgemeinen mindestens zu zwei Drittel und mehr die Peripherie der Zelle, d. h. daß die Dottermasse von sehr wenig Cytoplasma umgeben ist. Zu 3 % finden sich aber Zellen, deren Dotter von einer dickeren Schicht Protoplasma rundum umgeben ist. Wenn das Ooplasma in solchem Falle nicht trübe ist und die Eizelle hierdurch sehr klein erscheint, zeigt das Hellfeld die tatsächlichen Verhältnisse. Hin und wieder sieht man auch Eier, deren Dotter nur eine Dreiviertel-Schale ohne Boden bildet, die fast das ganze Cytoplasma des Eies enthält.

Im allgemeinen ist das Cytoplasma im Dunkelfeld nicht zu erkennen oder nur ganz schwach zu erahnen. Bei rund 18 % der Eizellen und davon wieder 55 % aus der II. Gruppe ist das Plasma erkennbar; es hat die Fähigkeit Licht, zwar nicht in so hohem Maße wie der Dotter, zu reflektieren bzw. abzubeugen. Sehr selten ist etwas vom Kern zu sehen. Seine Umrisse sind anhand der Dotteraussparung zu erahnen, ebenso sind die Umrisse des Nucleolus ab und zu ganz schwach angedeutet. Nur zweimal fanden sich Zellen mit leuchtendem Kernkörperchen wie Bild 3 zeigt.

b) Phasenoptische Untersuchungen

1. Corona radiata

Bei der hier ausgeführten Gewinnungsart erhält man ein Fünftel bis ein Viertel der Eizellen ohne Cumulus ophorus oder Corona radiata. In den einzelnen Gruppen ist dabei eine steigende Anzahl festzustellen. In der I. Gruppe sind es 20,0 %, in der II. Gruppe 21,7 %, in der III. Gruppe 24,1 % und in der IV. Gruppe 27,7 %. Beim einzelnen Tier kann die Anzahl viel höher und die Schwankungen größer sein. So gibt es Tiere aus deren einem Eierstock 22,7 % zellfreie Eier zu gewinnen sind und aus dem anderen 77,7 %, oder auf der einen Seite 16,6 % und auf der anderen 27,7 %.

In den einzelnen Gruppen bestehen bei den Corona radiata-Zellen keine Unterschiede, nur in der Konsistenz des Cumulus ophorus. In der Gruppe IV sind die einzelnen Zellen disperser, aber die Matrix zwischen ihnen scheint zäher geworden zu sein, jedenfalls bereitet die mechanische Denudation mehr Mühe. Beim überwiegenden Teil der Eizellen mit anhaftendem Cumulus ophorus ist dieser wohl durch das Aufsaugen in eine Pipette nicht mehr vollständig, so daß Teile der Eizelle mit Zona pellucida oder sogar die ganze Zelle in der optischen Ebene sichtbar sind. Einige Eizellen scheinen sehr fest vom Eihügel bzw. der Corona radiata umschlossen zu sein, denn von der Eizelle ist dann nichts oder nur sehr wenig zu sehen. Außerdem sind die Follikel-epithelzellen solcher Eier bei gleicher Kondensorstellung und Lichtstärke sehr dunkel, vornehmlich nur rund und vergrößert bzw. gequollen (Bild 4 und 5). Im Dunkelfeld sind sie stark leuchtend.

Die Corona radiata sitzt in dichter Folge der Zona pellucida auf und bildet um diese eine Art Strahlenkranz, dessen "Strahlen" die durchsichtige Zone zu durchdringen scheinen. Bei mittlerer Vergrößerung lassen sich weder einzelne Zellen noch einzelne Zellfortsätze ausmachen, sondern die Zona sieht als ganzes fein gestreift aus. Bei höherer Vergrößerung kann man

einzelne Epithelzellen in ihren Umrissen und Strukturen erkennen, aber die Zona pellucida erscheint homogen, nicht gestreift. Es gibt Follikelepithelzellen, die annähernd rund sind und direkt an die Zona grenzen; andere Zellen sind lang ausgezogen, überragen die anderen oft um mehr als die Hälfte. Da die Zellen sehr dicht sitzen, ist nicht zu sehen, ob die beiden Arten regelmäßig alternieren.

Bei Eizellen, denen noch einzelne Follikelzellen anhaften, kann man bei sorgfältiger Fokussierung Zellfortsätze in die Zona pellucida sichtbar machen und auch solche, die diese ganz durchdringen. Sie münden innerhalb der Eihaut in einer kolbenartigen bzw. bläschenartigen Verdickung, die das gleiche Material wie die Zelle selbst zu enthalten scheint (Bilder 6, 7, 8). Losgelöste Follikelepithelzellen zeigen mehr als einen Zellausläufer, meistens läßt sich ein größerer und mehrere feinere um die Peripherie verteilt, differenzieren (Bild 9).

2. Zona pellucida

Die Eizelle wird von denen sie umgebenden Corona radiata-Zellen durch ihre zweite Hülle die Zona pellucida getrennt. Hinsichtlich ihres Aufbaus gibt es bei den einzelnen Gruppen keine Unterschiede; man findet die unten beschriebenen Erscheinungsformen in allen Gruppen.

Die Zona pellucida kann am besten beobachtet werden, wenn sie weitgehend frei von Follikelepithelzellen ist. Denn diese Zellen, die unter der optischen Ebene liegen, täuschen eine Struktur meist in Form einer Schattierung vor, die tatsächlich nicht vorhanden ist (Bild 10).

Die Zona pellucida der meisten Eizellen besteht aus zwei oder mehr Schichten. Entweder sind die beiden Schichten gleich dick oder die äußere Schicht stellt den Hauptteil der Zona, wobei dieser fast immer dunkler ist oder ein dunkler Rand hellt sich nach innen zu langsam auf (Bild 11). Bei manchen Eiern ist die innere Lage nochmals unterteilt, jedenfalls besteht hier ein

mehr fließender Übergang als zwischen der äußeren und inneren bzw. der mittleren Lage (Bild 12). Die einzelnen Schichten halten ihre Dicke nicht an allen Stellen gleich, so daß manche Abschnitte ein anderes Bild bieten. Bei 875facher und 1125facher Vergrößerung lassen sich die einzelnen Schichten nicht mehr unterscheiden, höchstens errahnen, die Zona pellucida sieht homogen aus (Bild 13 und 14). Nicht bei allen Zellen läßt sich auch bei sorgfältiger Fokussierung der geschichtete Aufbau erkennen. Sie sieht dann bei gleicher Kondensorstellung sehr hell aus (Bild 15 und 16). Bei einigen wenigen Zellen ist die Zona pellucida im Gegenteil sehr dunkel.

Im allgemeinen ist die zweite Eihülle glatt und nach außen gut abgegrenzt. Bei einigen Eizellen ist sie dagegen aufgelockert, uneinheitlich besonders die äußere Begrenzung. Meist weist sie dann auch dunkle Striche auf, die entweder vom inneren Rand nach außen streben oder umgekehrt. Diese Merkmale bleiben auch bei höherer Vergrößerung sichtbar (Bilder: 17, 18, 14).

Die Zona pellucida besitzt bei den einzelnen Zellen eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit. Bei manchen muß schon ein erheblicher Druck vermittels des Deckglases angewandt werden, um sie zum Platzen zu bringen. Andere dagegen geben schon leichtem Druck nach. Unterschiedlich sind die Art der Ruptur und die Weise des Ausfließens, des Zellinhaltes. Ein Teil der Zellen bildet einen Spalt in der Eihaut und der Zona pellucida, durch den sich jede größere Dotterkugel geradezu zwängen muß (Bild 19). Andere Zellen bersten in großem Umfang fast bis zu ihrem Zentrum, um ihren Inhalt nach außen zu entlassen (Bild 20).

Dieser wird entweder wie eine zähe Masse, die eine abgerundete Form enthält, abgegeben (Bild 21) oder er zerläuft und zerstreut sich schnell in dem zunächst zellfreien Milieu (Bild 22). Dieses Verhalten beruht sicher nicht allein auf den Eigenschaften der Zona pellucida, sondern auch auf denen des Cytoplasmas. Die Beobachtungen lassen sich in allen Gruppen machen und auch in allen Altersstufen der Eizellen.

3. Eihaut

Die erste Hülle der Eizelle ist die Eihaut oder Plasmahaut. Sie ist nicht immer deutlich zu erkennen, vornehmlich dann, wenn sie als dunkle Linie von der helleren Zona pellucida absticht, oder bei Schrumpfung des Vitellus bzw. Bildung des perivitellinen Raums deutlicher wird (Bild 23, 24). Sie kann in allen Gruppen gut oder weniger gut erkannt werden. Daneben gibt es aber auch Zellen, bei denen keine Eihaut zu sehen ist; hier scheint das Cytoplasma selbst die Begrenzung des Vitellus zu sein (Bild 25, 26).

4. Dotter

Den Hauptteil der Schweineeizelle stellt die Dottermasse. Sie setzt sich aus einzelnen Kugeln und Kügelchen in der Größe von 2,5 bis 6,0 μm zusammen. Bei Einstellung auf die optische Ebene des Eies stellt sich der Dotter besonders im Zentrum als mehr oder weniger amorphe Masse dar, in der eventuell noch einzelne geschichtete polyedrische Gebilde zu erkennen sind. In Wirklichkeit wie eine andere Ebeneneinstellung zeigt, handelt es sich immer um glatt begrenzte Kugeln (Bilder 27 u. 28). Man kann auch das Bild einer wolkigen Trübung oder Konglomeration des Dotters erhalten, was sich bei anderer Einstellung als einzelne dicht gepackte Dotterkugeln entpuppt (Bilder 15 u. 29). Ist die Dottermasse ganz kompakt, erscheint der Ei-Inhalt bei kleinen Vergrößerungen tief schwarz (Bild 30). Wie die Abbildungen zeigen, läßt der Dotter nur wenig vom Cytoplasma sichtbar werden, selten erhält man Bilder wie Nr. 31 (obere Eizelle).

5. Ooplasma mit Einschlüssen

Eine eingehende Strukturanalyse des Cytoplasmas in der gesamten Zelle ist durch die ansehnliche Menge Dotter in der Schweineeizelle meistens nicht möglich; aber nicht nur durch die Gesamt-Dotter-Masse, sondern auch durch einzelne Dotterkugeln, die in verschiedenen Ebenen liegen. In den günstigen Fällen gewährt die Lagerung des Dotters eine Beobachtung des Rand-

cytoplasma, manchmal auch der mittleren Gebiete, es sei denn man befreit die Eizelle vorsichtig durch den geringen Druck des Deckglases von der Masse des Dotters. Zudem kann das Bild des Cytoplasmas durch aufliegende Follikelepithelzellen beeinträchtigt werden, die wegen ihrer geringen Dicke bei Einstellung auf den Zelläquator im Phasenkontrastmikroskop nicht sichtbar werden. Daß fast immer einige Zellen auch nach sorgfältiger mechanischer Denudation haften bleiben, sieht man am besten im Fluoreszenzmikroskop.

In eine Grundsubstanz, die im PM hellgrau bis mittelgrau erscheint, sind kleinste dunkelgraue Granula und größere dunkelgraue bis schwarze eingebettet. Bei den letzteren, die in ihrer Größe variieren, ist es nicht immer eindeutig, ob es sich um kleinste Dotterkügelchen handelt oder um andere Gebilde (Bilder 32, 33). Die kleinsten Granula bilden in der subkortikalen Schicht und weiter zur Mitte des Eies hin mehrere Gruppen, von lang ausgezogener Gestalt, die zum Teil zusammenhängen (Bild 34). Dazwischen sind kleinere und größere Vakuolen eingestreut. Diese finden sich auch in den Randgebieten, zum Teil hängen sie zusammen, damit das Bild eines Netzwerkes hervorruft (Bild 32). Neben den beschriebenen Einschlüssen finden sich in manchen Zellen noch kleine rundliche, helle Gebilde, die schwarz umrandet sind. Sie hängen zu zweit oder zu dritt aneinander und bilden Grüppchen. (Bilder 35, 36). Bei einigen Zellen ist das Grundcytoplasma bei gleicher Kondensorstellung und Lichtstärke dunkelgrau bis schwarz. Der äußerste Rand besteht fast nur aus kleinsten schwarzen Granula (Bild 11) oder das Randgebiet scheint dunkel homogen, die ganzen Einschlüsse der Randzone liegen ringartig in der anschließenden Zone (Bild 37). Bei einigen Zellen scheint dagegen der Gesamtinhalt an Einschluspartikeln erhöht zu sein, so daß zwischen den Dotterkugeln schwarz melierte Gebiete liegen (Bild 10).

6. Nucleus und Nucleolus

Der Kern, der hier untersuchten Stadien der Eizelle liegt stets exzentrisch bzw. peripher und zwar in einer dotterfreien Zone des Eies. Sehr oft ist der Kern nicht oder nur teilweise zu begutachten, da die Zelle sich meist mit der breitesten Ausdehnung des Dotters dem Beobachter zuwendet. Daher kann man nicht immer entscheiden, ob der Kern mehr rundlich oder längsoval ist. Die allermeisten Kerne sind relativ groß und rund; sind sie oval, liegen sie mit der Breitseite an der Peripherie oder sogar direkt an der Eihaut. Die Kernmembran ist sehr deutlich; bei manchen Zellen bleibt sie auch bei sorgfältiger Fokussierung unscharf und verschwommen. Andere Nucleoli wiederum scheinen doppelt konturiert zu sein (Bild 38). Das Karyoplasma gibt stets das Bild einer homogenen durchscheinenden Masse, die den darunterliegenden Dotter- und Cytoplasma-Anteil schemenhaft erkennen läßt (Bild 39). Bei den hier untersuchten Zellen kam der Kern in Einzahl vor wie auch sein Nucleolus. Dieser liegt stets exzentrisch, ist mehr oder weniger stark lichtbrechend und immer von rundlicher Gestalt. Manche Nucleoli allerdings scheinen keine Kugelgestalt zu haben, sondern eine wallartige Struktur mit Mark- und Rindenzone, die nach STEGNER (1967) die aktive Form des Nucleolus darstellt (Bild 40).

Seine Konturen sind meist sehr deutlich auch bei solchen Eizellen, bei denen die Kernmembran selbst kaum zu erkennen ist. Ist der Kern weitgehend von Dotter bedeckt, kann es trotzdem gelingen, den Nucleolus scharf einzustellen. Da dieser eher in die optische Ebene rückt als der zugehörige Kern, gewinnt man den Eindruck, als ob er soweit peripher liegt, daß eine Prominenz an der Kernoberfläche entsteht (Bild 41). Auch das Harnkörperchen erscheint auf manchen Bildern doppelt konturiert, allerdings ist die innere Kontur stärker ausgeprägt (Bild 42).

Der Nucleolus-Inhalt ist überwiegend homogen mit wolkigen Verdichtungen (Bild 43). Einige weisen eine Kondensation in der Randzone, die anderen im Zentrum auf (Bild 44). Wieder andere haben eine exzentrische runde Vakuole (Bild 43).

manchmal auch noch Randvakuolen (Bild 46). Ab und zu findet man im Nucleolus ein verzweigtes Gebilde gleich einem Sternchen, das exzentrisch liegt (Bild 47). Aus demselben Bild ist ersichtlich, daß der Kern nicht immer rund oder oval ist. Er kann wie hier erhebliche Eindellungen haben, wobei der Kern fast eine gelappte Form aufweist. Allerdings tritt diese Erscheinungsform selten auf. Des öfteren findet sich auch eine Ansammlung von Kernmaterial um das Kernkörperchen, meist an einem Pol mehr als am anderen (Bild 48).

Die Größe der Kerne aller Eizellen lag zwischen 25 μm und 55 μm , die Größe der Kernkörperchen zwischen 7,5 μm und 18,1 μm . Die Verteilung in den einzelnen Gruppen sah folgendermaßen aus:

Gruppe	Kern	Kernkörperchen
I.	44,8 μm	16,1 μm
II.	40,6 μm	10,7 μm
III.	35,2 μm	10,4 μm
IV.	39,1 μm	12,3 μm

7. Perivitelliner Raum und Polkörper

Der hypolemmale Raum steht in enger Beziehung zur Bildung der Polkörper. Naturgemäß kann man die Leiden nur in der IV. Gruppe finden. Bei der hier ausgeführten Gewinnungsart bleibt es allerdings dem Zufall überlassen, solche Eizellen zu gewinnen, die acht Stunden (Beginn der 1. Reifeteilung) oder kürzer vor der Ovulation standen. Bild 49 zeigt deutlich das allseitige Abrücken der Eihaut von der Zona pellucida. Die ganze Rundung des Vitellus ist mit Dotter ausgefüllt. Es ist daher anzunehmen, daß der Kern und der eventuell schon ausgestoßene Polkörper unterhalb der optischen Ebene liegen. Dabei entsteht der Eindruck, als ob der entstandene Raum mit cytoplasmatischem Material ausgefüllt ist.

Bild 50 zeigt den perivitellinen Raum in anderer Sicht und zwar hat sich der Vitellus hier sichtbar nur an einer Stelle zurückgezogen. Man erkennt am Rand eine rundliche Ausbuchtung.

8. Eidegenerationen

Etwa ein Fünftel der untersuchten Eier (21,6 %) war morphologisch verändert, so daß sie mit einiger Sicherheit zu degenerierten Eizellen gezählt werden können. Am häufigsten sind die Alterationen, die sich hauptsächlich durch eine Schrumpfung des Vitellus auszeichnen. Bild 51 zeigt eine unregelmäßige Schrumpfung unter Bildung eines Spaltraumes. Hier ist aber auch gleichzeitig die Zona pellucida durch Hyalinisierung verändert.

Andere Zellen zeigen nur eine Schrumpfung des Vitellus, wobei die Oberfläche glatt sein kann (Bild 52) oder unregelmäßige Konturen aufweist (Bild 53). Bild 54 zeigt granuläre Elemente um den Restvitellus; es ist nicht auszuschließen, daß sich nur die Dottermasse zusammengezogen hat und das z. T. getrübte Cytoplasma den Spalt ausfüllt. Auch Bild 55 zeigt ähnliche Verhältnisse. Meistens schrumpft der Vitellus so, daß allseitig ein mehr oder weniger gleichmäßig großer Raum entsteht. Bild 56 zeigt eine Abnahme des Vitellus nur an einer Stelle, sonst grenzt er direkt an die Zona pellucida.

Andere Degenerationsformen zeichnen sich durch Trübung und Quellung des Cytoplasmas und des Dotters aus, wodurch die Konturen der ganzen Eizelle verwaschen erscheinen (Bilder 57 u. 58).

Bei manchen Zellen sind auch bei sorgfältiger Einstellung nur diffuse Begrenzungen durch den in Auflösung begriffenen Vitellus und die Hyalinisierung der Zona pellucida zu erkennen (Bild 59, 60). Bild 61 zeigt dagegen einen in Schrumpfung begriffenen Kern (undeutliche Konturen der Eizelle durch Fokussierung auf den Restkern). Die Vergrößerung zeigt das noch deutlicher; der Kern bzw. das Kernkörperchen ist nur mehr zu erahnen (Bild 62), ebenso auf Bild 63, wo nur noch schwach die ovale Kernkontur angedeutet ist. Andere Eizellen zeigen keine Auflösungserscheinungen, sondern Anhäufungen kleiner cytoplasmatischer Einschußpartikel (Bild 64).

Im Kapitel über den Dotter wurden Zellen erwähnt, deren Dottermasse aus einigen großen Kugeln besteht. Einige von ihnen weisen morphologisch noch andere Veränderungen auf; wie Bild 65 sehr schön zeigt, liegt eine transparente hyalinisierte Zona pellucida vor. Die Dotterkugeln sind nicht sehr groß, so daß das schaumig erscheinende Cytoplasma gut zu sehen ist. Bild 66 zeigt wenige sehr große Dotterkugeln, die im ebenfalls schaumigen Cytoplasma liegen. Bei genauerem Betrachten entdeckt man an der Peripherie des Vitellus den geschrumpften Kern. Im Dunkelfeld ist diese Stelle wie Bild 67 zeigt, ausgespart und das Cytoplasma erscheint wolkig.

Als besondere Form der Degeneration von Follikeleizellen kommt zuweilen die Furchung des Ooplasmas vor. Auf Bild 68 ist eine solche Zelle zu sehen, wobei zu bemerken ist, daß ein gleich großes drittes Segment sich auf der Rückseite der beiden sichtbaren befand. Außerdem ist nicht das gesamte Cytoplasma gefurcht, sondern nach der Tönung im PM und der Leuchtkraft dieser Zellsegmente im Dunkelfeld zu schließen, handelt es sich hauptsächlich um den Dotter, der die drei Furchungskugeln bildet. Auf Bild 69 ist deutlich an der Peripherie im übriggebliebenen Cytoplasma ein pyknotischer Kern zu erkennen. Auch die Zona pellucida erscheint verändert, optisch dichter und nicht mehr ganz intakt, jedenfalls weist sie kleinste Risse auf.

Der Ausdruck "Furchung" ist für den vorliegenden Fall wegen der Ähnlichkeit des Erscheinungsbildes bei der Entwicklung der Zygote benutzt worden. Von vielen Autoren wird diese Erscheinung als parthenogenetische Furchung zur Diskussion gestellt. Deshalb spräche man besser von einer segmentationsähnlichen Fragmentierung. Ein ähnlicher degenerativer Prozeß ist der Zerfall in ungleiche Teile wie in Bild 70 dargestellt.

9. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen

Unter dem Fluoreszenzmikroskop wurden sechzig Eizellen untersucht nach der Methode von AUSTIN und BISHOP (1958). Die Zellen sind vorher weitgehend denudiert worden. Zuvor ist zu bemerken, daß sich in allen Gruppen bestimmte granuläre Cytoplasma-Elemente rot anfärben, das Kernmaterial um den Nucleolus, in manchen Fällen dieser selbst, grün anfärben, und ebenfalls der Dotter. Auffallend ist, daß bis auf wenige Ausnahmen zunächst die rote Granulierung zu sehen ist, die dann nach etwa 30 Sekunden bis einigen Minuten einer immer intensiver werdenden Grünfärbung weicht. Die angedeuteten Kugelformen scheinen den Dotter darzustellen.

Der Kern ist an dem dotterfreien Areal, selten an seiner ganz feinen grünen Grenzlinie vor allem aber an seinem Nucleolus erkennbar. Er ist nicht immer darstellbar und zwar in den einzelnen Gruppen mit abfallender Frequenz: In Gruppe I und II zu je 45 %, in Gruppe III zu 33 % und in Gruppe IV zu 25 %. Auffallend ist, daß in der ersten Gruppe von den Zellen, bei denen ein Kern sichtbar ist, 80 % ohne Nucleolus erscheinen, 12 % einen schwach grünen Nucleolus zeigen. In der zweiten Gruppe liegen die Verhältnisse ähnlich nur mit umgekehrten Prozentsätzen: 60 % der darstellbaren Kerne haben ein grünes Kernkörperchen schwach bis mittelkräftig fluoreszierend, 26 % haben keinen angefärbten Nucleolus und 14 % einen solchen wie man ihn in den anderen Gruppen findet, allerdings zusätzlich einen kompakten grünen Körper enthaltend.

In der dritten Gruppe haben 23 % der Kerne einen grünen Nucleolus und 77 % ein Kernkörperchen.

In der vierten Gruppe finden sich 20 % Kerne mit grünem Nucleolus und 80 % "umrandete" Nucleoli.

Die rote Granulierung betrifft fast nur die Randgebiete des Eies besonders in den beiden ersten Gruppen. In Gruppe I ist die Granulierung entweder sehr fein und licht oder grob und damit auch dichter. Bei einigen Eiern sind es nicht nur Granula, sondern kleinste Kügelchen und längliche Stückchen, die rot fluoreszieren. Vor allem in der IV. Gruppe aber auch in der III. finden sich Eier, die durchweg eine rote Pünktelung zeigen. Die rote Fluoreszenz dauert in keiner Gruppe länger als vier Minuten, im Schnitt 1,5 bis 2 Minuten, dann wird allmählich die Grün-Fluoreszenz stärker, bis schließlich schon bei mittlerer Vergrößerung alle Konturen überstrahlt werden. Durch die Fluorochromierung läßt sich feststellen, welche Eizellen die erste Reifeteilung vollzogen und einen Polkörper ausgestoßen haben. Dieser erscheint grün in deutlich vorhandenem perivitellinem Raum, der außerdem noch schwach grüne Granula enthält. Die Zona pellucida ist, wenn überhaupt, nur schwach grünlich angedeutet. Die Granulosa-Zellen fluoreszieren sowohl mit ihrem Kern als auch dem Cytoplasma grün. Ihre grünen Zellfortsätze durchdringen die Zona pellucida meist bis zur Hälfte, manchmal findet man sie aber bis dicht an die Eioberfläche heranziehend. Weiterhin gibt das Fluoreszenzmikroskop Aufschluß über die Follikelepithelzellen wie sie auf Bild 5 zu sehen sind, die im Stereomikroskop stark aufleuchten. Diese Zellen geben das Bild einer allgemeinen Zellauflösung mit Kariorrhesis. Es ist kein intakter Kern mehr auszumachen, die Zelle enthält stark rot fluoreszierende Granula und größere Gebilde.

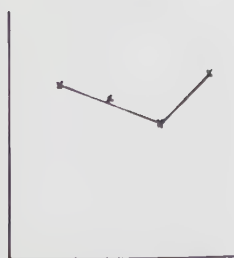
10. Größe der Eizellen

Die Größe der Eizelle, die in keiner Beziehung zur Körpergröße des Tieres steht, soll aber sehr wohl von der Follikelgröße abhängig sein. Bei den untersuchten Schweineeizellen war diese Abhängigkeit jedoch nicht nachweisbar. Es wurden in jeder Gruppe fünfzig Eizellen gemessen, wobei die wenigen Eier,

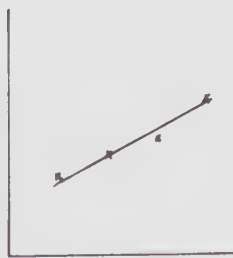
die mehrere Durchmesser hatten, wie auch extreme Größen (200 μm) bei der Auswertung unberücksichtigt blieben.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen ($s_m = s/\sqrt{n}$) wurden in den einzelnen Gruppen eruiert:

Durchmesser des Vitellus	Dicke der Zona pellucida	Durchmesser des Gesamteies
I. 135,11 μm $s_m = 2,23$	I. 10,67 μm $s_m = 0,30$	I. 147,45 μm
II. 132,87 μm $s_m = 2,22$	II. 11,01 μm $s_m = 0,33$	II. 143,89 μm
III. 127,82 μm $s_m = 2,28$	III. 11,37 μm $s_m = 0,33$	III. 139,20 μm
IV. 137,03 μm $s_m = 2,68$	IV. 12,18 μm $s_m = 0,35$	IV. 149,22 μm



I II III IV

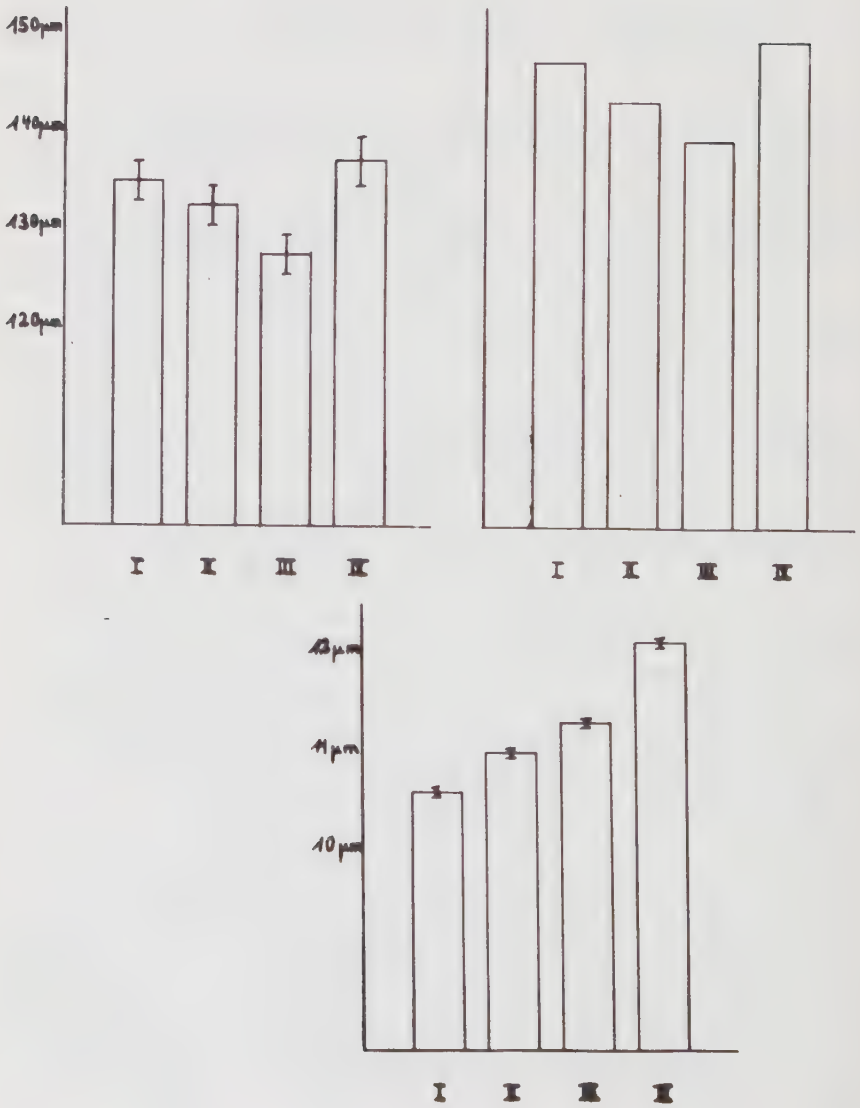


I II III IV



I II III IV

Graphisch dargestellt ergibt sich folgendes Bild :



Die Streuung bzw. die Varianz der Durchmesserwerte ist sowohl beim Ooplasma als auch bei der Zona pellucida nicht erheblich groß. Wohl ist die der Zona pellucida im Verhältnis zum Ooplasma viel größer. Damit wird der erste Eindruck, den man bei Betrachtung einer größeren Anzahl Eizellen gewinnt, vollauf bestätigt.

Nach PINCUS (1936) hat die Eizelle ihre volle Größe kurz vor der Antrumbildung des Follikels erreicht, dabei wächst die Schweineeizelle mit der langsamsten Rate. Demnach dürften während des Zyklus also vom Tertiärfollikel zum sprungreifen Follikel überhaupt keine Größenveränderungen mehr stattfinden.

Nach dem t-Test (siehe Tabellen) mit einem p von 0,05 gibt es in bezug auf den Vitellus und das Gesamtei keinen signifikanten Unterschied zwischen der ersten und der vierten Gruppe, wohl aber jeweils zwischen der ersten und dritten, und dritten und vierten Gruppe, was ja auch aus den Mittelwerten leicht ersichtlich wird. Eine direkte Größenzunahme des Eies während des schnellen Follikelwachstums findet nicht statt, sondern die Oozyte nimmt bis in die dritte Gruppe ab, um dann wieder um fast 10 μ m zuzunehmen. Anders verhält sich die Zona pellucida. Sie nimmt nicht viel aber beständig bis zur Sprungreife zu. Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen der vierten Gruppe und allen anderen. Daraus geht auch hervor, daß die Verhältnisse beim Gesamtei allein vom Vitellus abhängen. Es bleibt die Frage offen, ob es sich um eine echte Größenabnahme bzw. Größenzunahme durch Materialabgabe und -aufnahme handelt oder nur um eine Zustandsänderung des Ooplasmas, beispielsweise eine Kondensation des Zellinhalts und eine Auflockerung und damit Ausdehnung desselben.

Bei den verschiedenen Altersstufen der Eizelle gibt es in den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede, d. h. daß die Zona pellucida und der Vitellus im nicht mehr lebenden Eierstock auf diese Art der Aufbewahrung nicht mit Quellung oder Schrumpfung reagieren.

Ooplasma

Gruppen	p	Signifikanz
I gegen II	$>0,20$	-
I gegen III	$<0,025$	*
I gegen IV	$>0,25$	-
II gegen III	$>0,05$	-
II gegen IV	$>0,10$	-
III gegen IV	$<0,01$	**

Gesamtei

Gruppen	p	Signifikanz
I gegen II	$>0,10$	-
I gegen III	$<0,01$	*
I gegen IV	$>0,30$	-
II gegen III	$>0,05$	-
II gegen IV	$>0,05$	-
III gegen IV	$<0,0025$	**

Zona pellucida

Gruppen	p	Signifikanz
I gegen II	$>0,20$	-
I gegen III	$>0,05$	-
I gegen IV	$<0,0025$	**
II gegen III	$>0,20$	-
II gegen IV	$<0,01$	*
III gegen IV	$<0,05$	(*)

Man stößt des öfteren auf Eizellen, die einen sehr großen Vitellus haben und eine dünne Zona pellucida. Zwischen den beiden besteht aber in keiner Gruppe eine Korrelation.

In bezug auf die absolute Größe des Vitellus wichen die hier gefundenen Meßwerte etwas von denjenigen der Autoren ab, die mit fixierten und gefärbten Präparaten arbeiten wie z. B. AMMAN (1936). Die Werte von allen Eizellen liegen zwischen 93 und 178 μm und verteilen sich auf die einzelnen Gruppen folgendermaßen:

I. Gruppe	103 - 170 μm
II. Gruppe	104 - 164 μm
III. Gruppe	93 - 164 μm
IV. Gruppe	106 - 178 μm

Damit stimmen die niedrigen Werte in etwa mit denen von SMIDT und HOLTZ (1967) überein, die höheren Werte mit HAFEZ (1962).

Die absoluten Werte der Zona pellucida liegen zwischen 6 und 18 μm und sind folgendermaßen auf die einzelnen Gruppen verteilt:

I. Gruppe	6 - 16 μm
II. Gruppe	7 - 15 μm
III. Gruppe	7 - 15 μm
IV. Gruppe	6 - 18 μm

Auch hier hat AMMAN (1936) mit 3 μm den niedrigsten Wert. Die oben ermittelten Werte stimmen mit denen von SMIDT und HOLTZ (1967) - 5,1 bis 25 μm überein; die obere Grenze liegt allerdings mehr bei der von KVASNICKIJ und KONJUCHOWA (1963) mit 20,0 μm .

D. DISKUSSION

1. Corona radiata

In dieser Arbeit wurden im Gegensatz zu SMIDT und HOLTZ (1967), die nur 6,3 % follikel-epithelzellularfreie Eier gewannen, eine verhältnismäßig hohe Anzahl solcher Eizellen gewonnen, nämlich 20 - 27 %. Dieser Prozentsatz dürfte wohl kaum von der Gewinnungsart abhängen, da hier eine mechanische Schädigung des Cumulus oophorus und der Corona radiata nicht in Betracht kommt. Es erhebt sich die Frage nach dem Entstehungsmodus dieser Zellen und ihrer biologischen Wertigkeit. Einmal könnte es möglich sein, daß sie von Anfang an keine Corona radiata erhalten haben, im Follikel also auch nicht in einem Zellhäufchen sitzen. Zum anderen ist es möglich, daß sie sich infolge nutritiver Störungen aus dem Cumulus gelöst haben. Gegen die erste Vermutung ist einzuwenden, daß nach einer Feststellung von BLANDAU (1967) Oozyten bereits im Primordialfollikel, falls sie nur teilweise von Follikelzellen umgeben sind, frühzeitig zu reifen beginnen und dann degenerieren. Ob nutritive Störungen zur Denudation führen, kann nicht mit Sicherheit behauptet werden, da zumindest im PM und FM keine regressiven Veränderungen festzustellen sind. Die Frage, ob es sich um Eier aus mehrreihen Follikeln handelt, die ja nach HARTMANN (1926) Eier mit normaler Zona pellucida enthalten können, die keine Verbindung mit Follikel-epithelzellen haben, muß ebenfalls offen bleiben.

Auffallend ist, daß beim Einzeltier der Prozentsatz denudierter Zellen sehr hoch sein kann, vor allem verschieden auf beiden Seiten. Liegt die Funktion der Follikel-epithelzellen in der Bildung der Zona pellucida und in der Ernährung des Eies, was von den meisten Autoren bejaht wird, sind diese Zellen zumindest als biologisch minderwertig anzusehen. Wenn sie überhaupt ovuliert und befruchtet werden, sind das womöglich Eizellen, die später die embryonale Mortalität hervorrufen.

Im PM und FM ist deutlich geworden, daß die meisten Zellen die Zona pellucida bis zur Hälfte durchdringen. Eine bestimmte

Anzahl jedoch sendet ihre Zellfortsätze bis an die Eioberfläche oder sogar in das Cytoplasma hinein, wo - dem Bild nach zu schließen - eine Art Pinocytose vor sich geht.

Damit wäre gesichert, daß zumindest eine Stoffübertragung stattfindet. Die zwei, drei und mehr Fortsätze der Follikelepithelzellen lassen darauf schließen, daß sie untereinander nicht nur durch die Matrix zusammenhängen und eine Art Syncytium bilden.

2. Zona pellucida

Im großen und ganzen stimmen die hier gemachten Beobachtungen über den Aufbau der Zona pellucida mit denen von DICKMANN (1964) überein, allerdings sind die drei Lagen nicht immer konzentrisch. Wie in der Einleitung schon bemerkt, läßt sich für die verschiedenen Grauwerte der Zona pellucida - sehr hellgrau, bis dunkelgrau - keine Erklärung finden. Es steht lediglich fest, daß diese beiden Arten über verschiedene Lichtrechnungswerte verfügen.

3. Eihaut

Wenn im PM auch nicht an allen Eizellen eine Plasmahaut zu sehen ist, was sicherlich mit an den optischen verhältnissen liegt, ist an allen Eiern eine Eihaut vorhanden. Diese wird nicht erst wie BOYD und HAMILTON (1958) sagen, nach der Befruchtung als Befruchtungsmembran sichtbar. Mikrovilli, ausgehend von der Vitellin-Membran in die Zona pellucida ziehend, wie sie HADEK (1969) im LM feststellt, konnten hier nicht beobachtet werden.

4. Dotter

Im Gegensatz zu BRAMBELL (1960) kann gesagt werden, daß die Schweineeizelle durch die Lage des Kerns eine Polarität aufweist. Nach SEIDEL (1953) nimmt der Dotter von dotterreichen Eiern, wie es hier der Fall ist, vom animalen zum vegetativen Pol hin deutlich sichtbar zu. Bei der oben beschriebenen Lage, die die Eizelle freischwimmend in Flüssigkeit einnimmt, ist

ihre animal-vegetative Hauptachse plan mit der optischen Ebene bzw. etwas schräg zu dieser gestellt. Es ist momentan nicht ersichtlich, was diese Stellung des Eies verursacht. Sie legt aber die Vermutung nahe, daß der Dotter innerhalb der Gesamtmasse relativ gleichmäßig verteilt ist, und daß bei Eiern, die von dieser Position abweichen, kompakte und lichte Stellen ungleichmäßig verteilt sind. Wenn der Dotter auch nicht allein bestimmend ist - Cytoplasma und Einschlüsse sind mitbestimmend - spielt er wegen seiner Menge eine bedeutende Rolle.

Die Dotterkugeln sind bei den Eizellen des Schweines nicht wie SMIDT (1965) sagt, gleichmäßig auf das ganze Cytoplasma verteilt, sondern wie die eigenen Untersuchungen zeigen, bilden sie eine bestimmte Konfiguration. Die hier erhaltenen Ergebnisse stimmen auch nicht mit denen von KVASNICKIJ und KONJUCHOWA (1963) (" Künstliche Besamung der Schweine ", S. 98 Abb. 24 Nr. 3 - 7) überein. In Zeichnung 3 und 4 sind beide Eier rund, die Bezeichnung "halbkugelförmig" und "doppelpolig" - zwei völlig verschiedene Aussagewerte - betreffen dem Gezeichneten nach nur den Dotter. Der Kern hat bei allen wiedergegebenen Eizellen eine falsche Position. Die übrigen Zellen sind entweder degeneriert oder stellen nur die Form des Dotters dar.

Eigene Beobachtungen ergeben, daß bestimmte Anordnungen des Dotters vermehrt vorkommen. Es bleibt die Frage offen, ob die Außenseiter anormal sind oder nur die Breite der Varianz angeben. Unter dem Stereomikroskop und unter dem PM lassen sich keine Alterationen an diesen Zellen feststellen. Auch bei der unterschiedlichen Leuchtkraft des Dotters im Dunkelfeld läßt sich mit mikroskopischen Untersuchungen nicht entscheiden, ob es sich um eine degenerative Veränderung handelt. Nach HEUSER und STREETER (1929) besteht der Dotter beim Schwein aus Fett. Auch Hund und Katze besitzen Fett-Dotter, der hauptsächlich aus Phospholipiden, weniger aus Triglyceriden besteht, welche sich bei Atresie der Eizelle erheblich vermehren.

Durch die ansehnliche Menge Dotter - die Eizelle des Schweines zählt zu den megalecithalen Eiern - erscheint es im PM immer mehr oder we -

niger dunkel. Bei verschiedenen Einstellungen wie beschrieben, lassen sich stets die einzelnen Kugeln erkennen. Es handelt sich also keineswegs bei diesen "dunkel erscheinenden Konglomeraten" wie HUHN (1953) sie beschreibt, um irreversible Konglutinationen von Dotterkügelchen u. a. und damit um Degenerationsformen. Hier dürfte eine optische Täuschung vorliegen. Die gewonnenen Größen der Dotterkügelchen stimmen ungefähr mit der einzigen Literaturangabe von CORNER (1928) überein, der eine Zahl von 3-5 μm nennt.

5. Ooplasma mit Einschlüssen

Es ließen sich im Cytoplasma drei Arten von Einschlüssen bzw. Zellorganellen außer dem Dotter feststellen: 1.) kleinste dunkelgraue Granula, die hauptsächlich in der subcortikalen Schicht und auch in der anschließenden Zone Grüppchen bilden, 2.) größere dunkelgraue bis schwarze Granula, die unregelmäßig im Cytoplasma verteilt sind, 3.) kleine rundliche helle Gebilde mit schwarzer Umrandung, die vornehmlich in der subcortikalen und daran anschließenden Zone liegen, 4.) Vakuolen meist in der cortikalen Schicht die kleinsten und zwischen den Granula-Grüppchen etwas größere eingestreut.

Die Einschußpartikel sind also keineswegs wie SMIDT (1965) sagt, "homogen verteilt". Auch ist nicht ersichtlich, was mit einer "kompakt einheitlichen feinkörnigen Struktur" und einer "kompakt einheitlichen Struktur mit groberen Granula" des Cytoplasmas gemeint ist (SMIDT und HOLTZ 1967). Nach ZOLLINGER (1948) ist das Golgi-Material im PM nicht zu sehen, und nach ODOR (1960) sind die Mitochondrien submikroskopisch klein. Andere Autoren jedoch wie AUSTIN und SMILES (1948) haben Mitochondrien im PM als kleine dunkle Granula gesehen. Nach dem Ort ihres Vorkommens müßten die unter 1.) aufgezählten Granula Mitochondrien sein. Die übrigen Einschlüsse sind anhand der Literatur nicht eindeutig irgendeinem Zellorganell zuzuordnen, seien es vesikuläre Komplexe, multivesikuläre Körper, ovoide membranartige Strukturen, Ergastoplasma oder Mikrosomen. Das Hyaloplasma, die Grundsubstanz,

läßt sich im PM nicht als fädiges Protoplasma erkennen, sondern als homogene Masse. Die unterschiedliche Elastizität der Eizelle, genauer im Kapitel über die Zona pellucida beschrieben, hängt unter anderem ab vom Zustand des Protoplasmas, das nach ZOLLINGER (1948) ein Kolloid in polyphasischem Zustand vom Sol-Gel-Gleichgewicht ist, was sich aber leicht ändern kann.

6. Nucleus und Nucleolus

Nach SEIDEL (1953) ist der große Kern des unreifen Eies dem Richtungskörperpol genähert und dieser wiederum liegt am animalen Pol, dem Ort der geringsten Dottermenge. Diese exzentrische Lage sehen ALLEN und PRATT (1930) bei Eiern, die noch nicht in Reife sind - wobei dieser Zeitpunkt nicht genau definiert ist - als Degeneration an. Das Gros der Kerne ist rund, an den ovalen Kernen oder deren Zelleib lassen sich jedoch keine Alterationen feststellen. Im homogenen Nucleoplasma konnten keine Randvakuolen oder granulierte Regionen festgestellt werden, außer der Zone direkt um den Nucleolus. Autoren, die mit dem PM oder EM ihre Beobachtungen gemacht haben, bestätigen das strukturlöse Kernplasma, das kein Retikulum wie gewöhnlich in fixiertem und gefärbtem Material zeigt (AUSTIN u. SMILES 1948).

Bei den doppelt konturierten Kernen war die innere Linie die kräftigere; es liegt daher die Vermutung nahe, daß es sich nicht um eine echte Doppelmembran handelt, sondern diese durch bestimmte Lichtbrechungsverhältnisse entsteht, zumal viele Kerne bei mittlerer Vergrößerung eine einfache Grenzlinie aufweisen. Jeder Zellkern hat submikroskopisch eine doppelte mit charakteristischen Poren versehene Membran; diese meint wohl SMIDT (1965) bei der Schweineeizelle. Bild 38 zeigt dagegen deutlich im dotterfreien Teil zwei gleich starke Konturen, die aber nicht weiter verfolgt werden können. Der Kern scheint nicht mehr intakt zu sein. Durch Verlust von Karyolymphe hat dieser seine Kugelgestalt verloren, ist abgeplattet und gekippt, so daß das Bild einer doppelten Membran entsteht.

Die doppelte Kontur des Nucleolus mag auf der gleichen Ursache beruhen wie beim Kern. Ein mehr oder weniger granuliertes Material umgibt den Nucleolus in Hufeisen- oder Ringform; es verfügen aber nicht alle - zumindest im PM nicht - über die Umrandung. Nach einer persönlichen Mitteilung von TILLMANN (1970) handelt es sich um Stoffwechselprodukte bzw. Abgabestoffe des Kernkörperchens, das ja das Zellplasma in seiner Proteinsynthese reguliert und eine bedeutende Rolle im Nucleinsäurestoffwechsel spielt.

Nach HUNTER und POLGE (1966) handelt es sich um das Chromatin-Material und zwar das Heterochromatin des Kerns. In bezug auf die Form dieser Umrandung herrscht Übereinstimmung mit den fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen. Es erhebt sich die Frage, ob es sich bei den doppelt konturierten Nucleoli um eben solch eine Umrandung nur in glatter Form handelt. Im FM hatten nur die grün fluoreszierenden keine solche Umgebung. Die exzentrisch gelegene Vakuole ist nach GRAU und KRÖLLING (1960) der für die Schweineeizelle typische Nucleolus oder das Schrönsche Korn, das sonst nur noch in Ganglienzellen vorkommt.

Bei der Größe des Durchmessers des Kernes als auch des Kernkörperchens läßt sich das gleiche Verhalten feststellen wie beim Vitellus. Sie nimmt von der ersten bis zur dritten Gruppe ab, um dann wieder anzusteigen, allerdings bleibt sie anders als beim Vitellus, unter dem Maß der ersten Gruppe. Über die Größe des Nucleus und seines Nucleolus der Schweineeizelle findet sich wieder nur eine Angabe bei AMMAN (1936), ein Durchschnittswert (35,0 μm , 6 μm), der in der hier gefundenen Schwankungsbreite liegt.

7. Perivitelliner Raum und Polkörper

In der angegebenen Literatur herrscht keine Einigkeit weder über die Entstehungszeit noch die Entstehungsart, noch über die Ausmaße des hypolemmalen Spaltraumes. Ja, von einzelnen Autoren wird sein Vorhandensein überhaupt angezweifelt. Wäh-

rend AMMAN (1936) es zur Diskussion stellt, ob es sich, da er mit fixierten und gefärbten Präparaten arbeitet, um ein Kunstprodukt handelt, behauptet WATZKA (1957) er sei weder an der menschlichen noch an der tierischen Eizelle vorhanden. Bei diesen Untersuchungen hat sich gezeigt, daß der perivitelline Raum in engem Zusammenhang mit dem Reifungsprozeß im Ei entsteht und zwar relativ kurz vor der Ovulation. Er nimmt höchstens ein Achtel bis ein Zehntel des Eivolumens ein; aber auch hierüber finden sich keine genauen Angaben. ODOR (1960) spricht von variabler Größe. Bei KVASNICKIJ u. KONJUCHOWA (1963) nimmt das Ei nur noch die Hälfte des Volumens ein, es handelt sich allerdings um Tubeneier. In eigenen phasenoptischen Erhebungen erscheint der Raum leer im Gegensatz zu fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen, die mit den elektromikroskopischen Untersuchungen von ODOR (1960) übereinstimmen.

Im PM konnten keine Eizellen mit eindeutigen Polkörper beobachtet werden, wohl im FM als grün fluoreszierende kleine runde Körper direkt unter der Zona pellucida.

8. Degenerationen

Die Degeneration von Eizellen hat verschiedene Ursachen, am häufigsten ist sie stoffwechselmäßig bedingt, sei es durch Fehlen bestimmter Stoffe (Mangelsterilität) oder durch Störung gewisser Stoffwechselfunktionen. Sie kann aber auch auftreten als erbbedingte Besonderheit, d. h. es entstehen von vornherein defekte Eizellen. Eine dritte Ursache stellt das Alter des Individuums dar. Beim Menschen spricht man von der Oozytenschwäche der alternden Frau (STIEVE 1951). Wenn auch einige Autoren beim Schwein die postnatale Neubildung von Follikeln beobachtet haben, sind doch viele von den meisten Eizellen bis sie zur Ovulation gelangen mehr Schädigungen ausgesetzt, als z. B. die, die in den ersten Zyklen zum Sprung kommen. Bei unseren Nutztieren spielt zwar die Alterung wegen frühzeitiger Verwertung keine große Rolle, doch müßte dieser Gesichtspunkt

bei den frühreifen Schweinerassen, die dementsprechend auch früher altern, Beachtung finden.

Neben den schon beschriebenen morphologisch erkennbaren Degenerationen, gibt es noch eine Reihe von Eizellen, die in bestimmter Weise von der Norm abweichen und damit den Beginn regressiver Veränderungen darstellen können. Allerdings sollte man sich den Ausspruch ZUCKERMANN'S (1962) vor Augen halten: "Es ist schwierig Atresie mit Sicherheit zu diagnostizieren." Zu dieser Gruppe zählen z. B. Zellen, deren Zona pellucida am äußeren Rand Auflösungserscheinungen zeigen wie auf Bild 14 schon demonstriert, oder solche Zellen, bei denen die Integrität ihrer Zona noch zusätzlich durch radial verlaufende Spalten und Risse gestört ist (Bild 18). Weitere Degenerationerscheinungen sind an diesen Zellen zumindest mit dem PM nicht festzustellen. Viele Autoren geben der Zona pellucida eine hohe Widerstandskraft bei allgemeiner Degeneration der übrigen Zelle. Alle Oozyten, die im letzten Abschnitt des Kapitels "Cytoplasma" beschrieben sind, gehören ebenfalls hierher. Denn Desintegration eines Teils des Deutoplasmas evtl. noch in bestimmter Form weicht vom allgemeinen Erscheinungsbild ab wie auch veränderte optische Eigenschaften des Cytoplasmas, die sich hier in verschiedenen Grauwerten äußern. Zu dieser Kategorie der anormalen Zellen zählen auch die Nucleoli mit "Sterncheninhalt" (Bilder 47, 41), zumal ihr gerade zu erkennender Kern lappig ist. Da der Kern der Eizelle in der Literatur als rundes bzw. kugeliges Gebilde angegeben wird, müßte diese Form zur Abnormität gezählt werden. Allerdings finden sich bei MANDL (1963) in einer Arbeit über die Ratten-oocyte etliche Aufnahmen mit dem PM, die solche Kerne zeigen, die als ganz physiologisch angesehen werden. Andere Abweichungen sind auch hier nicht festzustellen. Ebenso nicht bei manchen Eizellen mit Riesendotterkugeln, wie sie auf Bild 2 zu sehen sind. All diese Zellen, zumal viele von ihnen in sprungreifen Follikeln saßen, sind nicht zur Atresie verurteilt. Wenn sie ovuliert und vielleicht noch befruchtet werden, könnten ihre evtl. verminderte Lebensfähigkeit über ihr weiteres

Schicksal entscheiden. Sicher stellen sie Eizellen dar, die nach KVASNICKIJ u. KONJUCHOWA (1963) im Vergleich mit anderen Oozyten biologisch ungleichwertig sind.

9. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen

Die Schweineeizelle weicht in ihrer Fluoreszenz in bestimmten Punkten sowohl von anderen tierischen Zellen (STOCKINGER 1964) als auch von der Rattenoozyte (AUSTIN und BISHOP 1958) ab.

Der Zellkern der selbst untersuchten Eier zeigte überhaupt keine Fluoreszenz, d. h. daß er kein Chromatinmaterial - bis auf das um den Nucleolus - bzw. keine DNS enthält oder es mit Fluorochromen nicht darstellbar ist. Es handelte sich in allen Fällen um den Ruhekern, dessen Euchromatin in diesem Zustand seine Färbbarkeit verliert. Das Material um den Nucleolus stellt das Heterochromatin dar, das gut grün fluoresziert. Im allgemeinen besteht das Kernkörperchen aus viel RNS und Protein. Nach AUSTIN und BISHOP (1958) enthält das der Eizelle höchstens eine Spur RNS, wenn überhaupt etwas. Ca. 25 % der Oozyten hatten einen leicht grünen Nucleolus. Es fragt sich, ob es sich dabei um Eigenfluoreszenz handelt durch einen bestimmten DNS-Gehalt, oder ob es sich einfach um eine Überstrahlung handelt, zumal diese Kernkörperchen nicht sehr klar und deutlich waren. Einmal wäre das möglich von stark fluoreszierender Umrandung, zum anderen durch Überlagerung von anderem grün fluoreszierendem Material.

Auch in der Schweineeizelle gibt es rot fluoreszierende Cytoplasma-Granula, die nach STOCKINGER (1964) hauptsächlich aus RNS bestehen. Nach AUSTIN und BISHOP (1958) zeigt die Rotfluoreszenz die Mononucleotide in den Mitochondrien an. Folgende Überlegung führt sie zu dieser Annahme: die granulären Elemente des Cytoplasmas sollen hohe Konzentrationen an RNS und Mucopolysacchariden enthalten. Diese beiden Komponenten kommen aber auch im Hyaloplasma vor, das nicht fluoresziert. Andererseits ist der meiste Teil der Cytoplasma-RNS an die Mikrosomen gebunden und deshalb mehr oder weniger gleichmäßig

durch das Hyaloplasma verteilt. Andere RNS, gebunden an granuläre Strukturen wie Mitochondrien, kann es nicht sein, da diese kaum RNS enthalten. In der lebenden Zelle sind Mononucleotide verantwortlich für die Absorption von UV-Strahlen von 2600 Å. Diese sind aber vor allem in den Mitochondrien konzentriert, deren Verteilung in der Oozyte der Verteilung der Rotfluoreszenz entspricht.

Es stellen sich mehrere Fragen, die im Rahmen dieser Arbeit nicht beantwortet werden konnten: 1.) warum in der Schweine-eizelle die Rotfluoreszenz so schnell verschwindet und dafür eine starke Grünfluoreszenz in K u g e l f o r m auftritt, die offensichtlich den Dotter darstellt. 2.) was die unterschiedliche Verteilung der roten Granula auch in Bezug auf die Gruppen bedeutet. 3.) welche Bewandtnis die unterschiedliche "Sichtbarkeit" des Nucleolus und die verschiedenen Prozentsätze in den einzelnen Gruppen hat.

E. ZUSAMMENFASSUNG

600 Oozyten in Bläschenfollikeln von Schlachtschweinen wurden vitalcytologisch auf ihre Struktur hin stereomikroskopisch sowie phasenoptisch untersucht. 60 Eizellen der gleichen Herkunft wurden fluoreszenzmikroskopisch nach Acridinorange-Färbung untersucht.

Die Oozyten wurden aus Follikeln der Follikelphase gewonnen, die in vier Gruppen entsprechend ihrer Größe und ihres Reifegrades eingeteilt worden waren.

Hinsichtlich ihrer Morphologie gab es bis auf den perivitellinen Spaltraum und den 1. Polkörper in den einzelnen Gruppen keine Unterschiede. Abweichend hiervon gab es Verschiedenheiten in der Größe des Vitellus und der Zona pellucida. Während diese eine steigende Tendenz von der I. bis zur IV. Gruppe zeigte, fiel der Vitellus in seiner Größe bis zur III. Gruppe ab, um in der letzten Gruppe knapp über die Größe der ersten anzusteigen. Auch die Durchmesser von Nucleus und Nucleolus verhielten sich in dieser Art: abfallende Werte von der ersten bis zur dritten Gruppe, dann Anstieg in der vierten Gruppe nicht über die Werte der ersten hinaus. Es ist festzustellen, daß die Relations zwischen dem Vitellus einerseits und dem Kern mit seinem Kernkörperchen andererseits praktisch immer gleich bleibt.

Die Dottermasse der Eizelle stellt eine Einheit dar. Die einzelnen Dotterkügelchen sind in den verschiedensten Konfigurationen angeordnet; man stößt hier auf eine große Varianz der Erscheinungsbilder.

Es wurde ein Fünftel bis ein Viertel der Eizellen ohne Cumulus oophorus bzw. Corona radiata gewonnen; in den einzelnen Gruppen mit steigendem Prozentsatz von 20,0 % - 27,7 %. Beim einzelnen Tier konnte in einem Eierstock die Anzahl fast 78,0 % betragen. Es stellt sich die Frage nach der biologischen Wertigkeit dieser Oozyten, da den Follikel epithelzellen von den

meisten Autoren eine nutritive Funktion zugesprochen wird.

In etwa mit SMIDT und HOLTZ (1967) übereinstimmend wurden 21,6 % Oozyten beobachtet, deren morphologische Veränderungen sie zu den Degenerationen ordnen. Dazu kommen etwa noch 15 % Zellen, die aufgrund bestimmter morphologischer Abweichungen auch nicht zur Norm gezählt werden können.

Die fluoreszenzmikroskopischen Erscheinungen der Schweineeizelle stimmen in etwa mit denen der Rattenoozyte (AUSTIN und BISHOP, 1958) überein. Allerdings konnte das abweichende Verhalten der Rotfluoreszenz in dieser Arbeit nicht ergründet werden.

Das Original enthält 70 Abbildungen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

- Allen, R. D.
Pratt, J. P. Human ova from large follicles, including a search for maturation division and observations on atresia.
Amer. J. of Anat. 46, 1 - 43 (1930)
- Amman, K. Histologie des Schweineeierstocks unter besonderer Berücksichtigung des Ovarialcyclus.
Vet. Diss. Zürich (1936)
- Austin, C.R. The mammalian egg.
Thomas, Springfield III. (1961)
- Austin, C.R. Die Befruchtung.
Kosmos-Studienbücher (1967)
Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart
- Austin, C.R.
Bishop, M.W.H. Differential fluorescence in living rat eggs treated with acridine orange.
Exp. Cell. Res. 17:35 (1959)
- Austin, C.R.
Smiles Phase-contrast microscopy in the study of fertilization and early development of the rat egg.
J. R. micr. Soc. 68:13 (1948)
- Bargmann, W. Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Thieme Verlag (1959)
- Beatty, R.A. Parthenogenesis and polyploidy in mammalian development.
Cambridge University Press. (1957)
- Blandau, R. Anatomy of Ovulation: Growth of the ovarian follicle.
Aus: Clinical Obstetrics Gynecology
Vol. 10, No 2, 347 June 1967
- Boyd
Hamilton Cleavage, early development and implantation of the egg.
Aus: Marshall's Physiology of Reproduction. Vol II (1958)
- Brambell, F.W.R. Ovarian changes.
II. Growth of the follicle, maturation of the ovum and ovulation.
Aus: Marshall's Physiology of Reproduction. Vol. I part I (1960)
- Chiquoine, A.D. The development of the zona pellucida of the mammalian ovum.
Amer. J. Anat. 106, 149 - 169 (1960)

- Corner, G.W. Cytology of the ovum, ovary and fallopian tube. In: Cowdry : Special Cytology Vol 2, 1111-1150, (1928) N.Y.P.B.Hoeber
- Dickmann, Z. Sperm penetration of the zona pellucida of the pig egg.
J. Exp. Biol. 41, 603 - 604 (1964)
- Dickmann, Z. The Zona Pellucida of the Rabbit Egg. Fertility and Sterility 14: 490 (1963)
- Fischer, A. Zur Kenntnis der Struktur des Oolemmas der Säugetiereizelle.
Anat. Hefte 29: 555 (1905)
- Gottschewski Über die Anwendungsmöglichkeiten der neuen Leitz-Phasenkontrasteinrichtung mit Kondensor nach Heine.
Z. wiss. Mikroskopie u. mikroskopische Technik 61, 185 - 200 (1953)
- Guraya, S.S. A histochemical analysis of lipid yolk deposition in the oocytes of cat and dog.
J. Exp. Zool. 160, 123-128 (1965)
- Hadek, R. Mammalian fertilization.
An Atlas of Ultrastructure
Acad. Press N.Y. a. L. (1969)
- Hafez, E.S.E. Reproduction in Farm Animals (1962)
Lea u. Febiger, Philadelphia
- Hartmann, C.G. How large is the mammalian egg?
A review.
Quar. Rev. Biol., 4: 373 (1929)
- Hartmann, C.G. Polynuclear ova and polyovular follicles in the opossum and other mammals, with special reference to the problem of fecundity.
Amer. J. Anat. 37, 1-51 (1926)
- Haselmann, H. Beiträge zur Phasenkontrastmikroskopie:
I. Praktische Methodik und kritische Betrachtungen.
Mikroskopie 5 (9/10) 214-224 (1950)
II. Strukturprobleme im Lichte der Phasenkontrastmikroskopie.
Mikroskopie 6 (1/2) 9-14 (1951)
- Heuser, C.H. Early stages in the development of pig embryos from the period of initial cleavage to the time of the appearance of limb-buds.
Carnegie Inst. Wash. Contrib. Embryol. 20,1 (1929)
- Streeter

- Huhn, J. Untersuchungen über die degenerativen veränderungen an Follikel- und Tubeneizellen der Säugetiere. Berl. u. Mün. tierärztl. Wschr. 70: 506 (1957)
- Hunter, R.H.F. Polge, C. Maturation of follicular oocytes in the pig after injection of human chorionic gonadotropin. J. Repr. a. Fert. 12, 525 - 531 (1966)
- Keuning, F.J. Das Phasenkontrastverfahren in der Mikroskopie: Theoretische Grundlagen und praktische Auswertung. Mikroskopie 5 (3/4) 49 - 61 (1950)
- Kvasnickij, A.V. Konjuchowa Künstliche Besamung der Schweine. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag (1963)
- Mathis, J. Beobachtungen an Eierstockseizellen. 1. Reifeteilung und geteilte Eizellen im Eierstock. 2. Veränderungen der Kernkörperchen. Z. mikr.-anat. Forsch. 37, 601 - 620 (1935)
- Mandl, A.M. Preovulatory changes in the oocyte of the adult rat. Proc. R. Soc. B. 158: 105 (1963)
- Odor, D.L. Electron microscopic studies on ovarian oocytes and unfertilized tubal ova in the rat. J. Biophys. and Biochem. Cytol. 7: 567 (1960)
- Pincus, G. The eggs of mammals. Macmillan. N.Y. (1936)
- Rubaschkin, W. Über die Reifungs- und Befruchtungsprozesse des Meerschweincheneies. Anat. Hefte 29: 508 (1905)
- Seidel, F. Entwicklungsphysiologie der Tiere. I. Ei und Furchung Sammlung Göschen Band 1162 (1953)
- Shettles, L.B. Ovum Humanum. Wachstum, Reifung, Ernährung, Befruchtung und frühe Entwicklung. Mün. u. Berl. Urban u. Schwarzenb. (1960)

- Smidt, D. Die Schweinebesamung.
Schaper-Verlag (1965)
- Smidt, D. Fortpflanzungsstudien an weiblichen
Schweinen.
Habil. Schrift Göttingen (1965)
- Smidt, D. Morphologische Studien an Follikel-
zellen vom Schwein.
Holtz Festschrift zum 60. Geburtstag von
Prof. Haring (1967)
- Sotelo, J. An Electron microscope Study on the
Poter Rat Ovum.
J. Biophysic. a. Biochem. Cytol. 5: 327
(1959)
- Schnell, U. Superovulation, Eitransplantation und
Zyklussynchronisation.
Fortpflanzung, Besamung und Aufzucht
der Haustiere. Bd. 4 128 - 164 (1968)
- Stegner, H.-E. Die elektronenmikroskopische Struktur
der Eizelle.
Bd. 39 Heft 6 Ergebnisse der Anatomie
und Entwicklungsgeschichte. (1967)
- Stieve, H. Die Oozytenschwäche der alternden Frau.
Zbl. Gynäk. 73, 637 - 643 (1951)
- Stockinger, L. Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung
tierischer Zellen.
In: Protoplasmatologia Bd. II D 1 (1964)
Wien, Springer-Verlag
- Tillmann, H. Struktur und Funktion der Eizelle.
Wagner, R. Der Tierzüchter 11 (1969)
- Trujillo-Cenoz Relationship of the ovular surface with
Sotelo follicle cells and origin of the zona
pellucida in rabbit oocytes.
J. Biophys. and Biochem. Cytology 5:
347 (1959)
- Watzka, M. Weibliche Genitalorgane.
Das Ovarium.
Springer Verlag (1957)
- Zollinger, H.U. Cytological studies with the Phase mi-
croscope. III. Alterations in the nuclei
of resting and dividing cells induced
by means of fixatives, anisotonic sol.
acids and alkali.
IV. Morphologic changes associated with
the death of cells in vitro and in vivo.
Amer. J. Path. 24 I. u. II. (1948)

Zuckermann
Mandl
Franchi

The development of the ovary and the
process of oogenesis.
In: Zuckermann : The Ovary Bd. I
Academic Press, N.Y., L. 311 - 344
(1962)

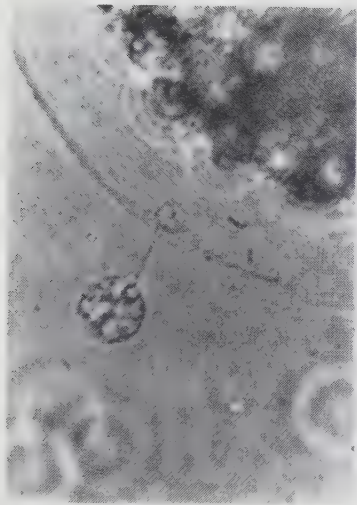


Bild 7

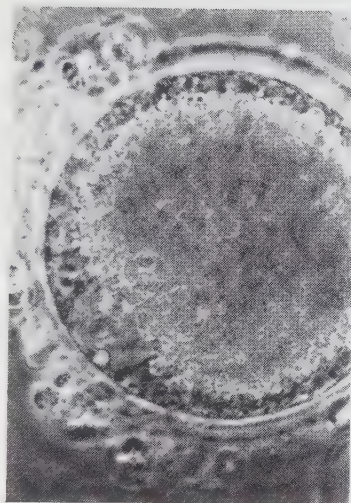


Bild 11

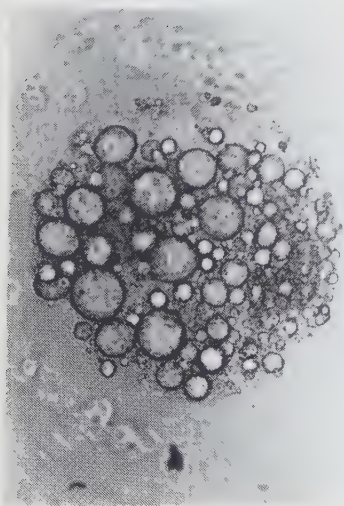


Bild 2

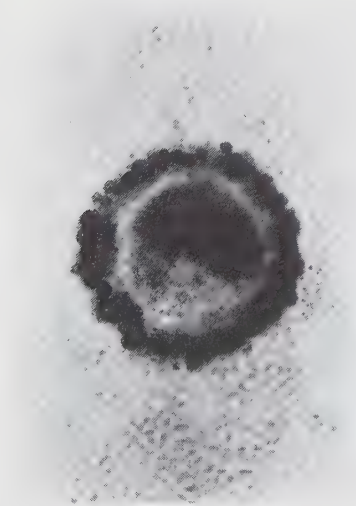


Bild 5

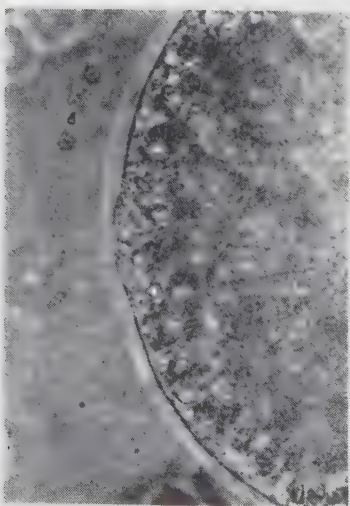


Bild 14

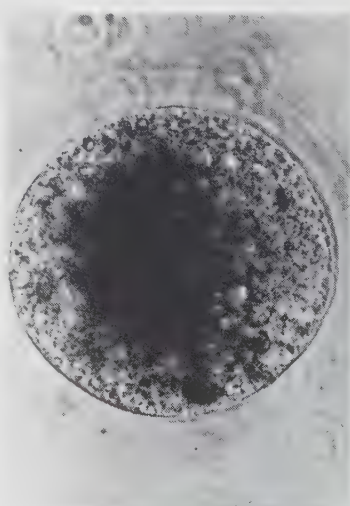


Bild 15

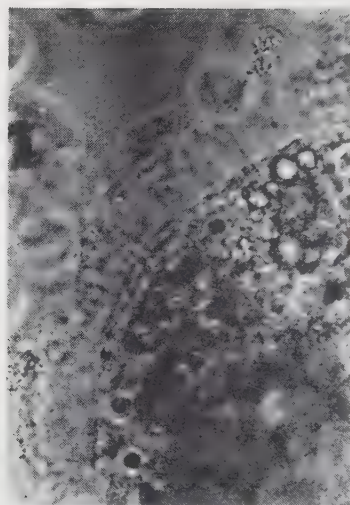


Bild 18

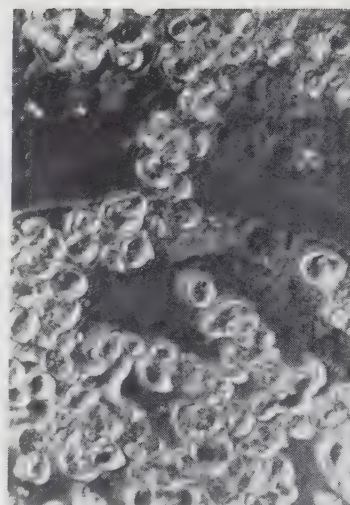


Bild 19

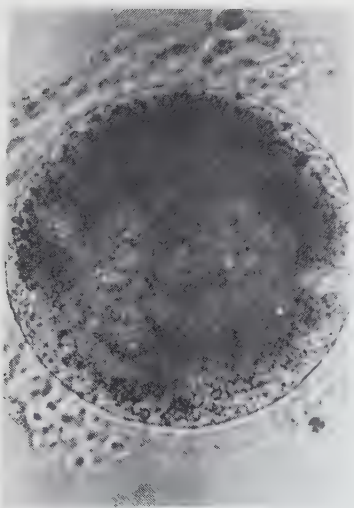


Bild 24

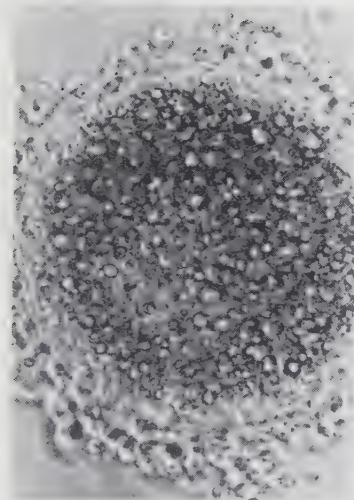


Bild 27

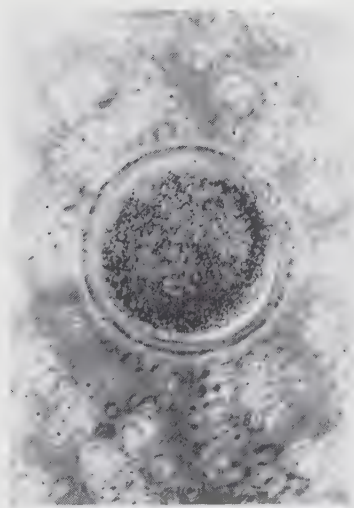


Bild 26

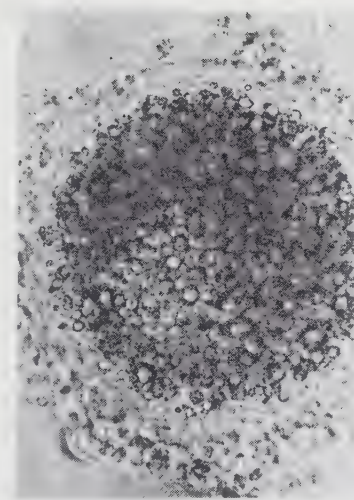


Bild 28

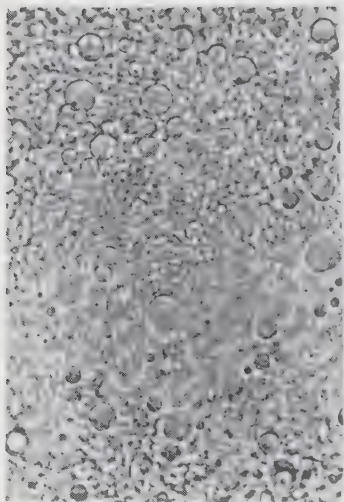


Bild 32.

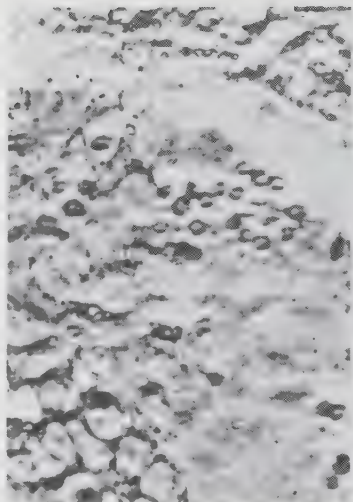


Bild 35

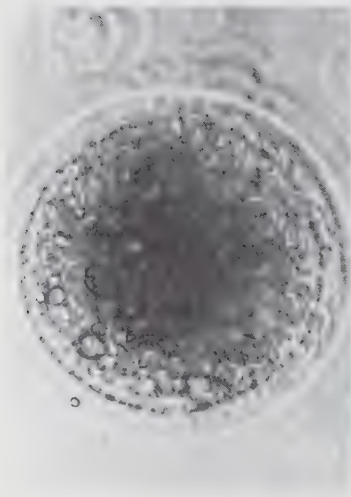


Bild 29

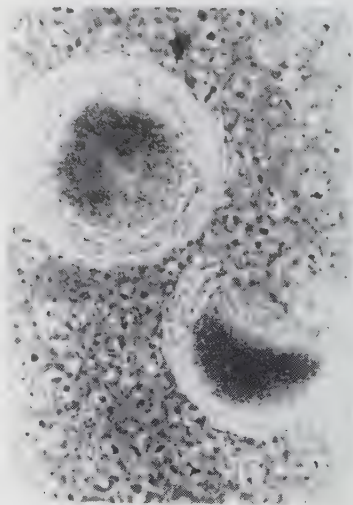


Bild 31

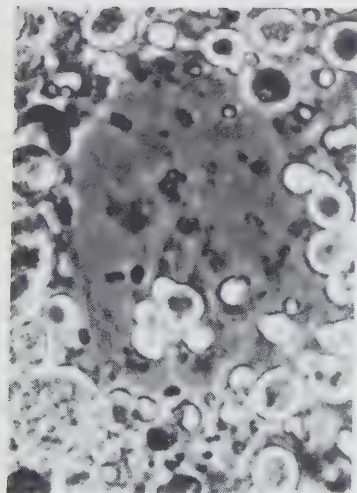


Bild 36

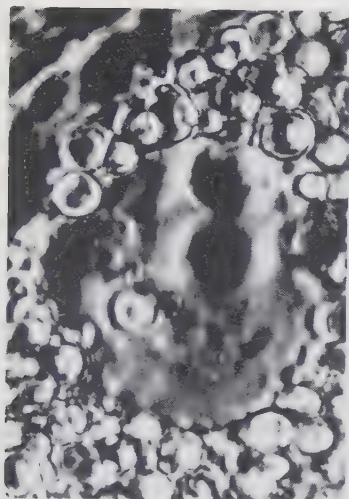


Bild 40

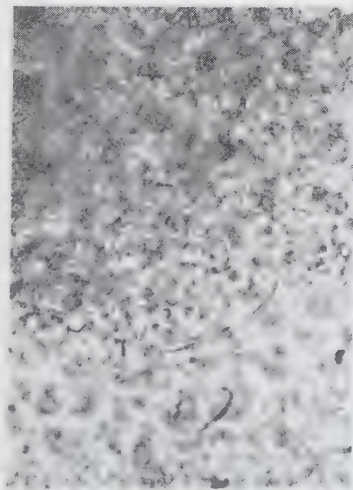


Bild 38

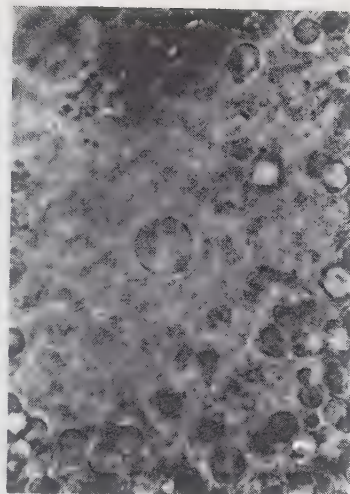


Bild 42

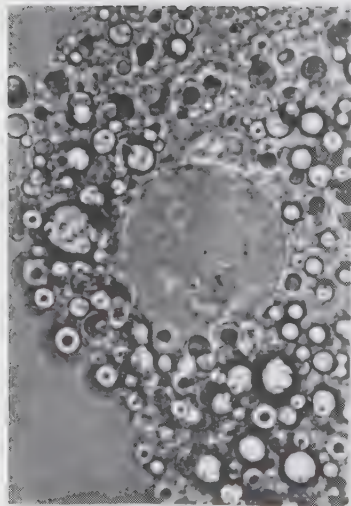


Bild 43

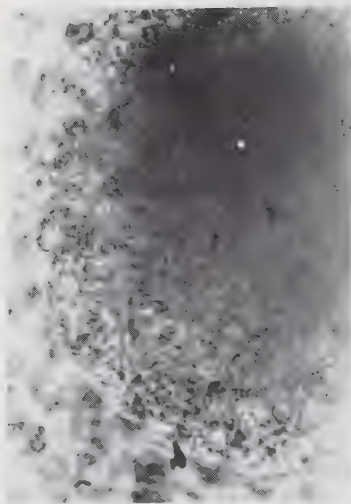


Bild 47

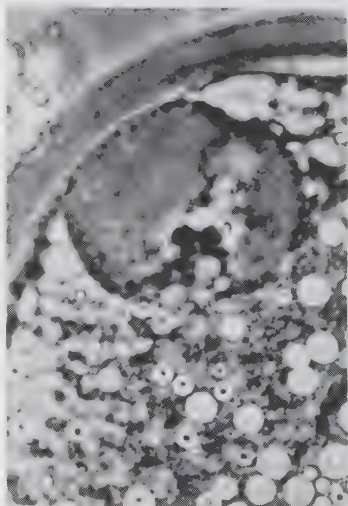


Bild 46

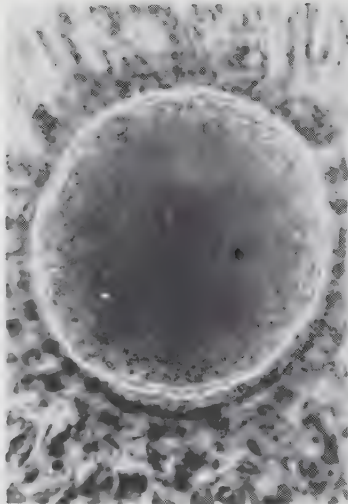


Bild 49

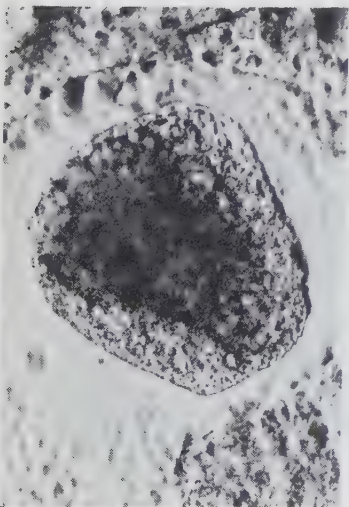


Bild 51

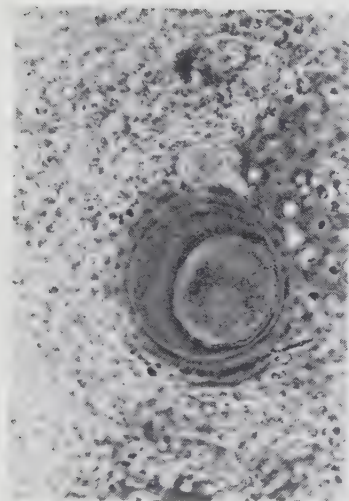


Bild 55

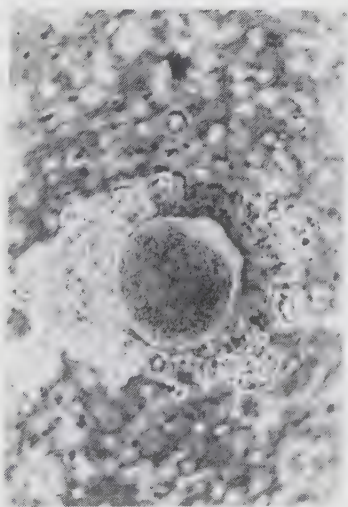


Bild 54

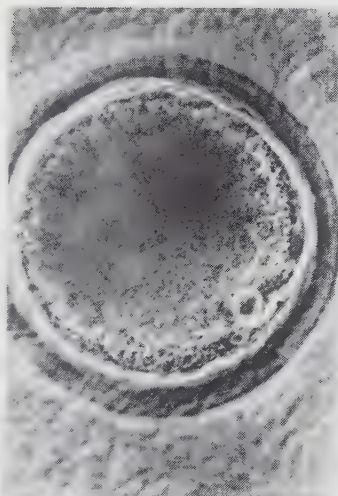


Bild 59

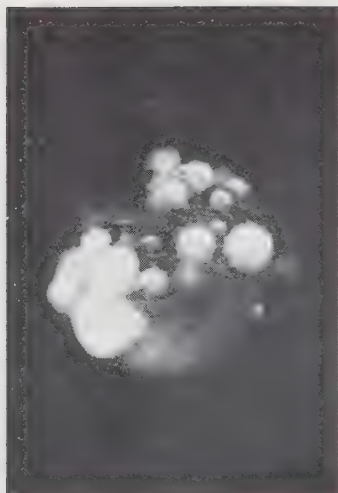


Bild 67

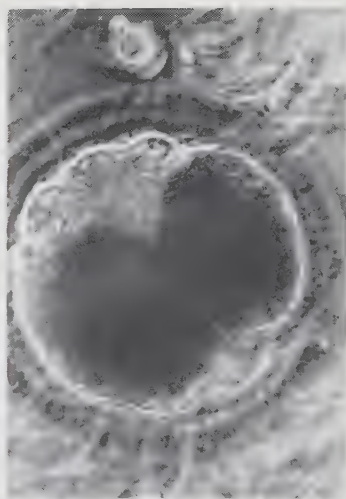


Bild 68

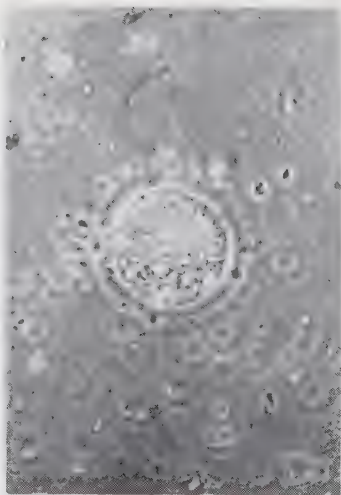


Bild 64

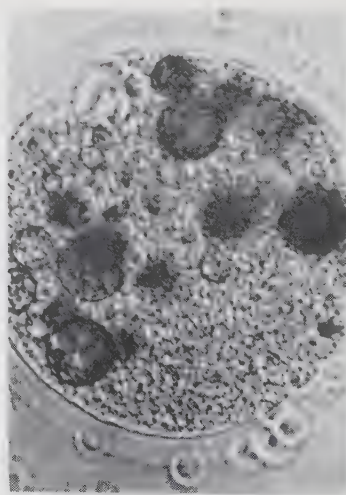


Bild 66

Herrn Prof. Dr. H. Tillmann danke ich für die Überlassung des Themas und für sein Interesse, mit dem er sich meiner Arbeit gewidmet hat.

Herrn Dr. Schütze vom Parasitologischen Institut danke ich für die wissenschaftlichen Anregungen während der Anfertigung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 23. Mai 1943 wurde ich, Wilma Specht geb. Dahl, als Tochter des Oberbaurats Guido Dahl und dessen Ehefrau Helene geb. Wiemes in Eschweiler bei Aachen geboren.

Nach mehrfachem Schulwechsel durch Versetzungen meines Vaters gelangte ich 1955 auf die Ursulinschule in Koblenz, wo ich 1963 die Reifeprüfung ablegte. Im Mai desselben Jahres begann ich mein Studium an der Vet. Med. Fakultät der Justus Liebig-Universität in Gießen. Dort legte ich im Juni 1965 die Tierärztliche Vorprüfung ab.

Das WS 1965/66 und das SS 1966 studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien. Ich beendete mein Studium an der Justus Liebig-Universität, wo ich im März 1968 die Tierärztliche Prüfung bestand.

Meine Praktikantenzeit leistete ich von April bis Oktober 1968 bei den Drs. E. und I. Elsholz in Bad Godesberg ab.

In der Zeit von November 1968 bis Juli 1969 war ich als wissenschaftliche Hilfskraft an der Amb. und Geburtsh. Veterinärklinik tätig und vom Juli 1969 an als Verwalter einer wissenschaftlichen Assistentenstelle in derselben Klinik.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449